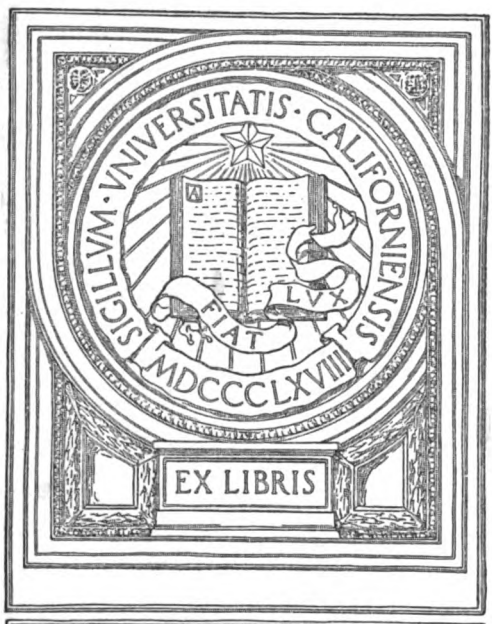
UC-NRLF
$B 650 585



COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS, CALIFORNIA

PROF. DR. L. MICHAELIS

PROF. DR. L. MICHAELIS

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Breslau, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. E., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Pavia, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Chr. Bohr-Kopenhagen, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, C. Brodie-Zürich, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, U. Friedemann-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos-Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. von Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Prag, Ch. Porcher-Lyon, F. Rechmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, Zd. H. Skraup-Wien, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, A. Stutzer-Königsberg i. Pr., F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Fünfundzwanzigster Band.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1910.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY
COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Sörensen, S. P. L. Bemerkungen über die Formoltitrierung, insbesondere über die Anwendung von Natronlauge oder Barytlauge bei derselben 1

Borchardt, L. und **H. Lippmann.** Über die Resorptionsweise des Bence-Jonesschen Eiweißkörpers 6

Heimrod, Geo. W. und **P. A. Levene.** Über die Tryptophan-Aldehyd-Reaktion 18

Scaffidi, Vittorio. Über den Atmungsstoffwechsel der Nervenfasern nach deren Resektion 24

Asher, Leon und **Theodor Karatilow.** Fortgesetzte Untersuchungen über die physiologische Permeabilität der Zellen. III. 36

Juschtschenko, A. Über die fettspaltenden und oxydierenden Fermente der Schilddrüse und den Einfluß letzterer auf die lipolytischen und oxydierenden Prozesse im Blute 49

Wohlgemuth, J. Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Fibrinfermentes und des Fibrinogens in Körperflüssigkeiten und in Organen 79

Browning, C. H., J. Cruickshank und **I. M'Kenzie.** Gewebskomponenten, die bei der Wassermannschen Reaktion beteiligt sind, insbesondere Lecithin und Cholesterin 85

Mergenroth, J. und **R. Kaya.** Über Toxolecithide II. 88

Leckemann, Georg und **Johannes Thies.** Über den Katalasengehalt des mütterlichen und foetalen Kaninchenblutes und über die Wirkung des foetalen Serums auf das arteigne Tier 120

Rosenheim, O. und **M. Christine Tebb.** Die Nicht-Existenz des sogenannten „Protagons" im Gehirn 151

Masuda, Niro. Ein Beitrag zur Analyse des Gehirns, insbesondere über den Cholesterin- und Fettsäurengehalt desselben 161

Burow, Robert. Über das Vorkommen eisenhaltiger Lipoide in der Milz. 165

Iwanoff, Leonid. Über die Wirkung der Phosphate auf die Ausscheidung der Kohlensäure durch Pflanzen 171

Stauber, Alice. Zur Frage des Eiweißabbaues im menschlichen Darme. 187

Glaeßner, Karl und **Alice Stauber.** Beziehungen zwischen Trypsin und Erepsin 204

Stutzer, A. und **J. Söll.** Tierphysiologische Versuche über die Wirkung von Cyanamid und von einigen seiner Umsetzungsprodukte . . 215

Quagliariello, G. Einfluß des Natrium-Glykocholats auf die Trypsinverdauung 220

Buglia, G. Einfluß der Gallensalze auf die Pankreasverdauung der Stärke 239

Pitini, Andrea. Einfluß einiger Toxine und Antitoxine auf das Oxydations- und Reduktionsvermögen der Gewebe I. 257

Schnitzler, Josef und **Victor Henri.** Die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf die Essigsäuregärung des Weines 263

62876

Seite

Sasaki, Takaoki. Über das Verhalten der Furfurpropionsäure im Tierkörper 272

Neubauer, Ernst. Über Hyperglykämie bei Hochdruckkrankheit und die Beziehungen zwischen Glykämie und Glucosurie beim Diabetes mellitus 284

Scaffidi, Vittorio. Untersuchungen über den Purinstoffwechsel. II. 296

Porter, A. E. Über die Inaktivierung von Fermenten und die Entstehung von Antifermenten in Gegenwart von Kollodium- und anderen Membranen 301

Asher, Leon. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. XV. 305

Siebert, Conrad. Über die Bestimmung des Quecksilbers in Harn und Faeces 328

Charnass, D. Zur Methodik der Eisenbestimmung im Blute 333

Cayda, Tullio. Calorimetrische Untersuchungen bei der Eiweißfällung durch Salze der Schwermetalle 341

Michaelis, L. und **P. Rona.** Die Beeinflussung der Adsorption durch die Reaktion des Mediums 359

Paul, Theodor, Gustav Birstein und **Anton Reuß.** Beitrag zur Kinetik des Absterbens der Bakterien in Sauerstoff verschiedener Konzentration und bei verschiedenen Temperaturen 367

Michaelis, L. und **B. Mostynski.** Die innere Reibung von Albuminlösungen 401

Scaffidi, Vittorio. Untersuchungen über den Purinstoffwechsel. III. 411

Scaffidi, Vittorio. Untersuchungen über den Purinstoffwechsel. IV. 415

Rohland, P. Über die Adsorption durch Talke 420

Unna und **Golodetz.** Die Cholesterinester der Hornschicht 425

Salkowski, E. Erwiderung auf die Mitteilung von Unna und Golodetz: „Über die Cholesterinester der Hornschicht“ 427

Gudzent. Tatsächliche Berichtigungen auf die Erwiderung von Bechhold und Ziegler zu meinen „Kritischen Bemerkungen“ über ihre Arbeit: Vorstudien über Gicht. Diese Zeitschrift 20, 187, 1909 und 24, 107. 1910 429

Wiechowski, Wilhelm. Das Schicksal intermediärer Harnsäure beim Menschen und der Allantoingehalt des menschlichen Harns; nebst Bemerkungen über Nachweis und Zersetzlichkeit des Allantoins 431

Reis, Fr. Chemische Versuche mit Calciumcyanamid und mit einigen daraus hergestellten Verbindungen 460

Reis, Fr. Physiologische Versuche mit Calciumcyanamid und einigen daraus hergestellten Verbindungen 477

Cobliner, S. Über das Antitrypsin 494

Takemura, M. Über den nicht koagulablen Stickstoff des Serums von normalen Menschen, von Geschwulstkranken und Syphilitikern 505

Takemura, M. Über Phosphorgehalt der Sera bei Gesunden, Syphilitikern und Carcinomkranken 508

Handovsky, Hans. Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. X 510

Bemerkungen über die Formoltitrierung, insbesondere über die Anwendung von Natronlauge oder Barytlauge bei derselben.

Von

S. P. L. Sörensen.

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 25. Februar 1910.)

Anläßlich einiger Anfragen, sowie um weiteren Mißverständnissen vorzubeugen, halte ich es für zweckdienlich, die folgenden Bemerkungen über die Formoltitrierung mitzuteilen, und zwar besonders um die Frage, ob Natron- oder Barytlauge bei der Formoltitrierung anzuwenden ist, etwas klarer zu stellen, als es in unseren früheren Abhandlungen geschehen ist.

Zuvörderst ist es notwendig, darüber im klaren zu sein, daß die Formoltitrierung zu zwei verschiedenen Zwecken Verwendung finden kann:

a) Erstens um die formoltitrierbare Stickstoffmenge einer gegebenen Verbindung oder Mischung von Verbindungen zu bestimmen, und

b) zweitens um eine proteolytische Spaltung messend verfolgen zu können.

a) Es handle sich darum, die formoltitrierbare Stickstoffmenge in einer Verbindung oder in einem Gemisch von Verbindungen — z. B. in einem Gemisch von Proteinspaltprodukten oder irgend einer biologischen Flüssigkeit — zu bestimmen. In solchen Fällen zerfallen, wie es in einer früheren Abhandlung über Formoltitrierung im Harne[1]) ausführlich auseinandergesetzt worden ist, die Operationen

[1]) V. Henriques und S. P. L. Sörensen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **63**, 27, 1909.

in zwei Teile, nämlich in die Neutralisation mit empfindlichem Lackmuspapier, nicht mit Phenolphthalein als Indicator, und in die eigentliche Formoltitrierung bis zu stark roter Farbe mit Phenolphthalein.

Wenn nun die vorliegende Lösung carbonat- und phosphatfrei ist, dann ist es gewöhnlich ganz gleichgültig, ob Natron- oder Barytlauge bei der Formoltitrierung Anwendung findet. Solcherweise stellt sich z. B. gewöhnlich die Sache, wenn von der Bestimmung der formoltitrierbaren Stickstoffmenge in einer bestimmten vorliegenden Verbindung die Rede ist. Übrigens scheint mir die Formoltitrierung bisher viel zu selten in derartigen Fällen angewandt worden zu sein; diese leicht und schnell auszuführende Operation kann bei Konstitutionsfragen oft Aufschlüsse von ausschlaggebender Bedeutung geben.[1])

Anders stellt sich die Sache, wenn von einer carbonat- oder phosphathaltigen Lösung die Rede ist. Würde man eine derartige Lösung mit Lackmuspapier als Indicator neutralisieren und darauf mit Phenolphthalein als Indicator formoltitrieren, dann würde man, wie es in der oben zitierten Abhandlung von V. Henriques und S. P. L. Sörensen[2]) erwähnt ist, einen Fehler einführen, indem zwischen der Lackmus- und der Phenolphthaleinneutralität solcher schwachen Säuren wie die Kohlensäure und die Phosphorsäure ein titrimetrisch deutlich merkbarer Unterschied vorhanden ist, der dann bei der Formoltitrierung irrtümlicherweise mit in Rechnung gezogen werden würde. Der Fehler wird bei Verwendung von Barytlauge noch größer werden als bei Benutzung von Natronlauge. So schlägt z. B. eine Phosphatlösung auf empfindlichem Lackmuspapier schon bei Anwesenheit von ungefähr äquivalenten Mengen primären und sekundären Natriumphosphats um[3]); mit Phenolphthalein und Natronlauge liegt dagegen der Umschlagspunkt (stark rote Farbe wie bei der Formoltitrierung) ungefähr bei reinem sekundärem Phosphat, und mit Barytlauge bis zu stark roter Farbe mit Phenolphthalein wird

[1]) Vgl. S. P. L. Sörensen, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 43, Nr. 4, 1910.

[2]) l. c., S. 33.

[3]) Vgl. V. Henriques und S. P. L. Sörensen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 133, Anm., 1909.

alle Phosphorsäure als normales Phosphat gefällt. Der Fehler, der dem Unterschied zwischen der Lackmus- und der Phenolphthaleinneutralität proportional ist, wird daher für jedes vorhandene Molekül Phosphorsäure bei Titrierung mit Natronlauge gleich $^1/_2$ Äquivalent Base (Differenz zwischen reinem, sekundärem Salz und einem Gemisch von äquivalenten Mengen primären und sekundären Phosphats), bei Titrierung mit Barytlauge dagegen gleich $1^1/_2$ Äquivalent Base (Differenz zwischen normalem Phosphat und einem Gemisch von äquivalenten Mengen primären und sekundären Phosphats) betragen. Der Fehler wird also bei Benutzung von Barytlauge dreimal größer sein als bei Benutzung von Natronlauge. Ähnliche Betrachtungen wie die hier für Phosphorsäure gemachten können auch bezüglich der Kohlensäure und der Carbonate angestellt werden.

Es ergibt sich hieraus, daß kohlensäure- oder phosphorsäurehaltige Lösungen nicht ohne Fehler direkt neutralisiert und darauf formoltitriert werden können. Solche Flüssigkeiten erfordern, wie es in der mehrmals erwähnten Abhandlung von Henriques und Sörensen beschrieben ist, eine Vorbehandlung mit Bariumchlorid und Barytlauge, wodurch die Kohlensäure und die Phosphorsäure als Bariumsalze gefällt werden; erst nachdem diese Salze abfiltriert worden sind, können in einem abgemessenen Teil des kohlensäure- und phosphorsäurefreien Filtrats die Neutralisation mit Lackmuspapier als Indicator und die darauf folgende Formoltitrierung bis zu stark roter Farbe mit Phenolphthalein fehlerfrei ausgeführt werden. Hierbei ist es selbstverständlich gleichgültig, ob Natronlauge oder Barytlauge verwendet wird.

Sollte es geschehen, daß die Vorbehandlung mit Bariumchlorid und Barytlauge nicht nur zur Fällung der Carbonate und Phosphate, sondern auch zur Mitausfällung stickstoffhaltiger, die Formoltitrierung beeinflussender Körper Anlaß gäbe, oder daß die Bariumsalze bei der nachfolgenden Formoltitrierung störende Niederschläge hervorriefen, dann muß die Vorbehandlung wegfallen. In solchen seltenen Fällen ist man dazu gezwungen, die Neutralisation direkt ohne Vorbehandlung vorzunehmen und darauf die Formoltitrierung mit Natronlauge, nicht mit Barytlauge auszuführen; man muß sich aber

erinnern, daß die Bestimmung der formoltitrierbaren Stickstoffmenge in diesem Falle mit einem kleinen, mit dem Gehalt an Kohlensäure bzw. Phosphorsäure wachsenden Fehler behaftet sein wird.

b) Es handle sich darum, eine proteolytische Spaltung messend zu verfolgen. Die Ausarbeitung der formoltitrimetrischen Meßmethode für proteolytische Spaltungen fußt auf der Voraussetzung, daß die Proteolyse ausschließlich in einem Auflösen von Peptidbindungen unter Bildung von Carboxyl- und Aminogruppen besteht und daß daher der Umfang der proteolytischen Spaltung durch den Zuwachs der formoltitrierbaren Stickstoffmenge gemessen werden kann.

Es ist leicht ersichtlich, daß die Messung sich auf ganz ähnliche Weise wie oben unter a) beschrieben, ausführen läßt, indem gleich große, zu verschiedenen Zeiten entnommene Proben der Verdauungsflüssigkeit mit Lackmuspapier als Indicator neutralisiert und darauf bis zu stark roter Farbe mit Phenolphthalein formoltitriert werden. Die Differenzen der betreffenden Formoltitrierungen, d. h. die Differenzen der in den entnommenen Proben gefundenen formoltitrierbaren Stickstoffmengen sind dann als Maß für den Umfang der proteolytischen Spaltung zu betrachten. Selbstverständlich haben auch hier die oben angeführten Betrachtungen Gültigkeit, d. h. bei carbonat- und phosphatfreien Lösungen ist es gleichgültig, ob Natron- oder Barytlauge bei der Formoltitrierung angewendet wird, und bei Anwesenheit von Kohlensäure oder Phosphorsäure muß eine Vorbehandlung mit Bariumchlorid und Barytlauge — wenn möglich — stattfinden.

Kann man aber — wie bei weitaus den meisten Fällen von proteolytischen Spaltungen — davon ausgehen, daß die Menge der Kohlensäure, der Phosphorsäure, der Salzsäure usw. während der Proteolyse unverändert bleibt, so läßt sich das Meßverfahren sehr bedeutend vereinfachen, indem der Neutralisationsprozeß mit Lackmuspapier als Indicator wegfallen kann, weil die zu verschiedenen Zeiten entnommenen Proben die gleichen Base- (bzw. Säure-) Mengen zur Neutralisation erfordern müssen. Die einzige Veränderung während der Proteolyse besteht ja in einer Neubildung von gleich vielen Carboxyl- und Aminogruppen, und solche Mischungen

reagieren dem empfindlichen Lackmuspapier gegenüber vollkommen neutral.[1])

Das formoltitrimetrische Verfahren bei der Messung einer proteolytischen Spaltung gestaltet sich daher am einfachsten auf die in meiner Hauptabhandlung über die Formoltitrierung[2]) angegebenen Weise, indem aus der Verdauungsflüssigkeit zu verschiedenen Zeiten gleich große Proben entnommen werden, die dann ohne vorherige Neutralisation formoltitriert werden können.

Wie steht es in diesem Falle mit der Verwendung von Natron- bzw. Barytlauge?

Handelt es sich um carbonat- und phosphatfreie Lösungen, so ist es selbstverständlich gleichgültig, ob Natron- oder Barytlauge verwendet wird, wenn nicht andere Gründe die Benutzung der Barytlauge verbieten.[3])

Ist dagegen von carbonat- oder phosphathaltigen Lösungen die Rede, dann ist gewöhnlich die Barytlauge der Natronlauge vorzuziehen, weil die Carbonate und die Phosphate, wie es in meiner eben zitierten Abhandlung erwähnt ist,[4]) sich scharf und einwandfrei mit Barytlauge, nicht aber mit Natronlauge titrieren lassen. Nur in solchen Fällen — und zwar besonders bei genuinen und wenig abgebauten Proteinmischungen[5]) — wo Bariumverbindungen störende Niederschläge hervorrufen, ist es notwendig bei der Titrierung Natronlauge zu verwenden, selbst wenn die Flüssigkeit Carbonate oder Phosphate enthält. In solchen Fällen ist der Umschlag aber nicht so scharf, wie es zu wünschen wäre.

---

[1]) Vgl. V. Henriques und S. P. L. Sörensen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 133, Anm., 1909.

[2]) Compt. rend. des trav. du lab. de Carlsberg 7; 47, 1907; diese Zeitschr. 7, 92, 1907.

[3]) Vgl. z. B. die oben zitierte Abhandlung. Diese Zeitschr. 7, 58, 1907.

[4]) l. c., S. 58 und 79.

[5]) l. c., S. 59.

Über die Resorptionsweise des Bence-Jonesschen Eiweißkörpers.

Von

L. Borchardt und H. Lippmann.

(Aus der medizinischen Klinik zu Königsberg i. Pr.)

(Eingegangen am 23. Februar 1910.)

In der Frage nach der Resorptionsweise der Eiweißkörper im Darme haben die letzten Jahre gründlich Wandel geschaffen.

Während man lange Zeit — entsprechend der Lehre Kühnes — die Unangreifbarkeit des sog. Antipeptons für sicher hielt und dem Verdauungstrakt nur einen bescheidenen Abbau von Eiweiß bis zu Albumosen und Peptonen zuschrieb, haben uns die Untersuchungen von Kutscher, Cohnheim, Abderhalden und deren Schülern gelehrt, daß ein weitgehender Eiweißabbau im Darmkanal, zum Teil schon im Magen stattfindet, und daß im Darm jedenfalls alle Bedingungen für die Zerlegung des Nahrungseiweißes in abiurete Spaltungsprodukte gegeben sind.

Diese Erkenntnis regte die vorher verneinte Frage nach der Eiweißsynthese im tierischen Organismus von neuem an; und es wurde zuerst von O. Löwi, dann von einer Reihe anderer Autoren der Nachweis erbracht, daß der tierische Organismus imstande ist, aus tief abgebauten Eiweißspaltungsprodukten Eiweiß aufzubauen.

Auch andere Erfahrungen sprachen für die Annahme, daß die Zerlegung des Eiweißes in seine Spaltungsprodukte als regelmäßiger Vorgang bei der Eiweißresorption anzusehen sei. Es zeigte sich, daß die älteren Untersuchungen über den Nachweis von Albumosen im Blute aus technischen Gründen unbrauchbar waren. Neuere Untersuchungen, die diese Lücke ausfüllen sollten, haben nicht zu einer Einigung darüber geführt, ob das Blut Albumosen enthält oder nicht. Es hat sich eben schließlich herausgestellt, daß die Frage nach dem Albumosengehalt des Blutes auch mit der modernen physiologisch-chemischen Methodik sich nicht mit voller Sicherheit lösen läßt.

So kam es, daß die Mehrzahl der maßgebenden Autoren, vor allem Abderhalden und Cohnheim, heute auf dem Standpunkte stehen, daß die Eiweißkörper der Nahrung vor der Resorption erst vollständig zerlegt werden müssen.

Allerdings sind einige Tatsachen bekannt, die den Übergang unveränderten oder wenig veränderten Eiweißes vom Darm in die Blutbahn beweisen und somit für die Möglichkeit sprechen, daß dieser Modus — wenn auch vielleicht nur in bescheidenem Maße — bei der Verdauung zur Geltung kommt. Aber diese Tatsachen haben unter dem Gewicht der zahlreichen Argumente für einen tiefgehenden Eiweißabbau im Darm sich keine allgemeine Anerkennung verschaffen können; und so scheint es notwendig, diese Momente zusammenzufassen, um zu verhindern, daß eine einseitige Auffassung ausschließlich den Vorgängen im Darmlumen eine Bedeutung beimißt.

Wenn wir hier von den bereits erwähnten Versuchen, Albumosen im Blut nachzuweisen, absehen, die ja zu einer Einigung nicht geführt haben (aus Gründen, die bereits an anderer Stelle auseinandergesetzt wurden)[1]), so hat man bisher auf zwei Wegen versucht, Verdauungsprodukte jenseits der Darmwand nachzuweisen: auf chemischem und auf serologischem Wege.

Die Resultate, die auf diese Weise erhalten werden können, sind nicht ohne weiteres vergleichbar. Während durch die chemischen Methoden die Art des Eiweißes, das verfüttert wurde, ev. sogar die Art des Abbauproduktes nachgewiesen werden kann, begnügt sich der Serologe mit dem Nachweis, daß Eiweiß eines bestimmten Tieres, von dem das Nahrungseiweiß stammt, im Blute kreist.

Beide Methoden ergänzen sich. Die chemischen haben den Nachteil, daß sie nur in sehr beschränktem Maße Anwendung finden können und gerade bei den wichtigsten Eiweißkörpern der Nahrung versagen. Dies beruht nur zum Teil auf dem Umstand, daß das Nahrungseiweiß, wenn überhaupt, nur in kolossaler Verdünnung im Blute vorhanden sein kann. Cohnheim[2]) hat berechnet, daß man günstigstenfalls nicht mehr als 0,03 g Nahrungseiweiß im Liter Blut erwarten dürfte. v. Bergmann und Langstein berechnen ähnlich niedere Werte. Wenn wir aber in Betracht ziehen, daß ein Teil des Nahrungseiweißes zweifellos bereits im Darm bis zu abiureten Spaltungsprodukten abgebaut wird, so muß diese Zahl noch als zu hoch angesehen werden.

Der chemische Nachweis von Nahrungseiweiß läßt sich daher nicht durch allgemeine Eiweißreaktionen, sondern nur durch gewisse spezifische Reaktionen führen, wie sie nur für wenige Eiweißkörper bekannt sind.

Diesen Nachteilen steht die größere Sicherheit eines positiven chemischen Befunds gegenüber.

Die serologischen Methoden sind empfindlicher, aber leider noch nicht absolut zuverlässig. Denn es wird durch sie nur nachgewiesen, von welchem Tier das Eiweiß stammt, aber nicht, ob und wie weit es bereits durch die Verdauung verändert ist.

---

[1]) Borchardt, Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 305, 1908.

[2]) Die Physiologie der Verdauung und Ernährung. S. 227. Berlin-Wien 1908.

Beide Methoden haben für den Nachweis resorbierter Eiweißkörper jenseits der Darmwand noch relativ wenig Verwendung gefunden, und so kommt es, daß dieses Kapitel der Verdauungsphysiologie in vielen Punkten noch strittig ist. Gemeinsam — wie in unseren Versuchen — sind sie überhaupt noch nicht angewandt worden.

Was zunächst die chemischen Methoden betrifft, so ist der einzige bisher eingeschlagene Weg des Nahrungseiweißnachweißes im Blut bereits von Neumeister im Jahre 1897 vorgezeichnet worden, ohne daß er selbst die von ihm vorgeschlagene Versuchsanordnung zur Ausführung brachte. Neumeister hat zuerst den Gedanken ausgesprochen, daß es möglich sein könne, „markierte" oder mit einer dauerhaften Marke versehene Eiweißkörper nach der Resorption im Organismus wiederzufinden.

Szumowski untersuchte auf Anregung A. Kossels, ob es möglich sei, das Maiseiweiß „Zein" vermittels seiner Eigenschaft von Alkohol im Gegensatz zu anderen Eiweißkörpern nicht gefällt zu werden, in den Organen wiederzufinden. Er konnte keine Spur des alkohollöslichen Eiweißkörpers nach der Resorption im Organismus nachweisen. Vielleicht ist der negative Ausfall dieser Versuche aber durch das inkonstante Verhalten des Zeins gegen Alkohol bedingt. Galeotti und Giampalmo[1]) leugnen neuerdings die Alkohollöslichkeit des Zeins.

Positive Resultate erhielt erst Borchardt[2]) mit Hemielastin, das durch die Eigenschaft, in der Hitze auszufallen und in der Kälte sich wieder zu lösen, außerordentlich leicht wiederzufinden ist. Nach Verfütterung dieser Elastinalbumose sowie des Elastins selbst fand sich das Hemielastin im Blut, Urin und in der Mehrzahl der untersuchten Organe wieder, ohne daß abundante Mengen des Eiweißkörpers verfüttert worden waren.

Ähnliche Versuche sind dann nur noch mit Jodeiweißkörpern angestellt worden. Mosse und Neuberg[3]) fütterten Hunde und Kaninchen längere Zeit mit Jodeigonnatrium und fanden Jod in organischer und anorganischer Bindung im Blut, Harn und in der Leber. Gelegentlich wurde auch Übertritt von Jodeiweiß in den Urin bemerkt.

v. Fürth und Friedmann[4]) verfütterten Jodalbacid und fanden nach der Resorption dieses Jodeiweißkörpers in Blut und Darmwand Jod zum geringsten Teil im Phosphorwolframsäureniederschlag, der die Albumosen und Peptone enthält; die Hauptmenge fand sich im Phosphorwolframsäurefiltrat, also der Aminosäurenfraktion, nicht an Albumosen oder Peptone gebunden. Der von den Autoren gezogene Schluß, daß das Jodalbacid zum mindesten seiner Hauptmenge nach eine tiefgreifende Spaltung erfährt, befriedigt nicht in vollem Maße. Ob aber eine kleine Menge der Spaltung entgeht, ist durch die Versuchsanordnung nicht zu entscheiden gewesen.

[1]) Arch. ital. de biol. 51, 321, 1910.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 51, 506, 1907 und 57, 305, 1908.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 37, 427, 1903.

[4]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Suppl.-Bd. (Schmiedeberg-Festschr.), 214, 1908.

Serologisch wurde der Nachweis, daß das eingeführte Nahrungseiweiß unverändert die Darmwand passiert, auf zwei Wegen in Angriff genommen.

Die erste Methodik, die wohl zunächst deshalb bevorzugt wurde, weil man zu ihrer Ausführung keiner vorbehandelten Tiere bedurfte, basierte auf der Überlegung, daß das artfremde Eiweiß, das an den Menschen verfüttert wird, bei ihm — analog dem intravenös injizierten Kaninchen — zur Bildung von Präcipitinen führen müsse, wenn es wirklich ohne Veränderung die Darmwand passiere.

Aber hierbei wurden zwei Voraussetzungen gemacht, die sich bei späteren Versuchen als nicht zutreffend erwiesen.

So hielt man es für sicher, daß das Eiweiß der Nahrung noch in einem Zustande an die Darmwand gelange, in dem es noch die Fähigkeit besitzt, antigen zu wirken, d. h. Präcipitine zu bilden.

Nun haben aber Obermeyer und Pick sowie L. Michaelis für das Hühnereiweiß, P. Th. Müller für das Kuhmilchcasein nachgewiesn, daß sie durch die Pepsin-Salzsäureverdauung die Fähigkeit, selbst bei intravenöser Applikation antigen zu wirken, einbüßen und somit ihr serologisches Merkzeichen verlieren.

Als zweiter Einwand gegen die Methodik hat sich ferner ergeben, daß der Mensch überhaupt ein schlechter Präcipitinbildner ist, so daß wir aus dem Ausbleiben der Immunkörperbildung keinen Rückschluß auf die Einführung des Antigens ziehen können. Dieser Befund wurde bei Patienten erhoben, die gegen eine Infektion mit therapeutischen, gewöhnlich vom Pferde stammenden Seris behandelt wurden. Schon Hamburger und Moro, v. Pirquet und Schick wiesen hierauf hin; unter anderem ist auch in neuerer Zeit ein derartiger Befund von Trembur erhoben worden. Auch wir konnten in zwei Fällen, die mit Pferdemeningokokkenserum intralumbal behandelt waren, eine Antikörperbildung nicht einmal mit der empfindlicheren Komplementbindungsmethode nachweisen, obgleich bei einem der Fälle die 4. Seruminjektion die schwersten Erscheinungen der Serumkrankheit hervorgerufen hatte. Unter diesen Umständen werden wir den negativen Befunden keine volle Beweiskraft zuerkennen können.

Solche negative Resultate finden wir bei Hamburger und Sperk, die sowohl nach 150 bis 200 g Rindfleisch, wie nach 150 bis 180 g Eierklar beim Menschen, Hamburger, der nach Kuhmilchernährung beim Kaninchen — ein Zeichen, daß nicht nur die schlechte Präcipitinbildung die Schuld am Ausbleiben der Reaktion trägt —, Moro, der beim mit Kuhmilch genährten Säugling die entsprechenden Präcipitine vermißten. Um so mehr müßten die positiven Befunde ins Gewicht fallen, die von Moro, Bauer und Moreschi im Blut von pädatrophischen, mit Kuhmilch genährten Säuglingen erhoben wurden.

Wir werden aber mit Rücksicht auf den gestörten Magenchemismus der Atrophiker und die leichtere Durchlässigkeit des kindlichen Verdauungstractus (Behring und Römer) diesen Befunden eine allgemeine

Bedeutung doch nicht zusprechen können, zumal auch durch Ganghofner und Langner bei Kaninchen, Hunden und Katzen lediglich in den ersten Lebenstagen der Durchtritt artfremden Eiweißes konstatiert werden konnte.

So erscheinen diese Untersuchungen bisher nicht geeignet, die Frage zur Lösung zu bringen.

Die zweite Methode bestand darin, daß man mittels hochwertiger, auf das betreffende Eiweiß eingestellter Kaninchenimmunsera dieses bald nach der Nahrungsaufnahme mittels der Präcipitations- bzw. der damit kombinierten Komplementbindungsmethode nachzuweisen versuchte.

Auch mit dieser Methodik, die also nur das einmalige Durchtreten einer minimalen Eiweißmenge verlangt, waren die Resultate divergent.

Positive Resultate erzielte Ascoli, der bei einem Kaninchen nach Schlundsondenfütterung von 60 ccm Eiereiweiß und bei Nephritikern nach Genuß von 4 rohen Eiern Hühnereiweiß im Harn nachweisen konnte. Auch bei 2 Gesunden konnte er Hühnereiweiß nach einer entsprechenden Mahlzeit im Blute wiederfinden. Aber diese Versuche konnten weder von L. Michaelis, Michelli noch Hamburger und Sperk bestätigt werden, ein Befund, der die Resorption unveränderten Hühnereiweißes und Rindereiweißes zu leugnen gestattet.[1])

Positive unzweifelhafte Resultate erzielten erst Uhlenhuth, Michaelis-Oppenheimer und Cantacuzène, die mit großen, bei der gewöhnlichen Nahrungsaufnahme gar nicht in Frage kommenden Mengen arbeiteten, die eine Anwendung der Magensonde erforderten.

Diese großen Mengen sollten nach Celler-Hamburger eventuell eine mangelhafte Pepsinsekretion und dadurch ein Beibehalten der Arteigenheit zur Folge haben, die das Eiweiß unverändert bis an die Darmwand gelangen ließ. Es scheint nun aber hierbei, wie schon Celler-Hamburger einwandten, nicht ausgeschlossen, daß eine Verletzung der Schleimhaut durch die Sonde stattgefunden hat und an dieser Stelle die lädierte Magenwand den Durchtritt des Eiweißes gestattet hat.

Fürs erste ist es sicher, daß derartige Sondierungen mit weicher Sonde kleinste Schleimhautverletzungen verursachen können. Finden wir doch mitunter nach Sondierung des Magens bei einem gesunden Patienten im vorher blutfreien Stuhle Blutreaktion als sicheren Beweis der stattgehabten Läsion.

Daß ganz geringe Mengen Eiweiß zur Auslösung von Präcipitinbildung genügen, wissen wir aus den Untersuchungen Hamburgers und Cellers, die bereits nach einmaliger, minimaler Eiweißgabe einen Präcipitintiter von 1:100000 erhielten.

Daß es sich nun in der Tat um derartige Sondenverletzungen handelte, scheint auch daraus hervorzugehen, daß der Übertritt des

---

[1]) Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß es möglich ist, durch ein Präcipitin mit größerer Reaktionsbreite die Passage artspezifischen, wenn auch schon abgebauten Eiweißes nachzuweisen.

Eiweißes bei Verfütterung gleichzeitig mit Kuhmilch ohne Sonde bei Hamburger und Celler ausblieb, daß ferner der Typus, nach dem sich bei dem Uhlenhuthschen Kaninchen die Antikörperbildung vollzog — bei dauernder täglicher Fütterung plötzlich Anstieg des Präcipitintiters, trotz weiterer Fütterung kein weiteres Steigen —, mehr für eine einmalige wie für dauernde Resorption spricht.

Sollte aber tatsächlich die Pepsinverankerung durch große Eiweißmengen die Ursache des Übertritts sein, so ist es nicht zu erklären, warum es L. Michaelis nicht gelang, bei Patienten mit anacidem Mageninhalt (perniziöse Anämie) den Durchtritt der Eiweißgaben nachzuweisen.

Somit ist es auch auf diesem Wege nicht gelungen, einwandfrei bei einer der normalen Nahrungsaufnahme entsprechenden Verfütterung die Passage unveränderten Eiweißes nachzuweisen.[1])

Noch eine letzte Fehlerquelle war zu vermeiden.

Man hatte festgestellt, daß die präcipitierenden Sera nicht nur mit dem Serum, durch deren Injektion sie erzeugt waren, sondern auch mit dessen einzelnen Fraktionen Präcipitation ergaben, so daß sie als aus mehreren Partialpräcipitinen zusammengesetzt zu denken waren. Das hatte aber zur Folge, daß man mit einem Nahrungseiweiß noch Präcipitatbildung erhalten konnte, wenn dasselbe schon größtenteils abgebaut war, und nur noch eine einzige präcipitable Gruppe enthielt, somit durchaus nicht mehr als unverändert passiertes Eiweiß anzusprechen war.

Durch alle diese Einwände war uns unsere Versuchsmethodik gegeben.

Wir durften nur Durchschnittsmengen verfüttern, mußten mit erwachsenen Tieren arbeiten, die Schlundsonde ausschalten und, da wir mit Hunden — gleich den Menschen schlechten Präcipitinbildnern — arbeiteten, uns hochwertiger Kaninchensera zum Nachweis des eingeführten Eiweißes bedienen.

Nur der letzte Einwand, daß bei erhaltener Artspezifität doch schon teilweise das Eiweiß abgebaut war, war schwer zu umgehen. Es gelang uns dies jedoch, indem wir die chemischen und serologischen Untersuchungsmethoden kombinierten, indem wir als Testeiweiß den Bence-Jonesschen Eiweißkörper, einen durch frappante, sinnfällige chemische Reaktion wohl charakterisierten Körper wählten.

---

[1]) Die sogenannte Antitoxinmethode, das Serum mit Antitoxin gefütterter Tiere auf seine antitoxische Eigenschaften nach der Fütterung zu untersuchen, erscheint uns von zu vielen noch unbekannten Faktoren abhängig, um daraus bindende Schlüsse ziehen zu können.

Das Vorkommen eines Falls von Bence-Jonesscher Albuminurie an der medizinischen Klinik[1]) in Königsberg gab uns dazu Gelegenheit.

Über die Klassifizierung des Bence-Jonesschen Eiweißkörpers ist man lange im Zweifel gewesen; indessen scheint es jetzt sicher festzustehen, daß er den nativen Eiweißkörpern näher steht als den Albumosen (Magnus-Levy[2]), wenn auch eine Reihe anderer Eigenschaften, wie die Löslichkeit seiner durch verschiedene Mittel erhaltenen Niederschläge in der Hitze ihm eine Mittelstellung zwischen Eiweiß und Albumosen einräumt.

Serologisch ist dieser Körper jedenfalls, wenn er vom Menschen stammt, für diesen artspezifisch, wie Rostoski nachgewiesen hatte. Kaninchen, die er mit Bence-Jonesschem Eiweißkörper injiziert hatte, gaben ein Serum, das nicht nur mit diesem, sondern auch mit anderen Eiweißstoffen menschlicher Provenienz, aber auch nur mit diesen Präcipitation ergab.

Für unsere Zwecke mußte der Versuch modifiziert werden. Wir gebrauchten ein Serum, das durch Vorbehandlung von

[1]) Krankengeschichte: J. J., 57 Jahre, Kantor aus Rußland, aus gesunder Familie, erkrankte Okt. 08 mit Leibschmerzen, Appetitlosigkeit, Wasseransammlung im Leib. Auf medikamentöse Behandlung zunächst Besserung, dann wieder Verschlimmerung.

25. II. 09 Aufnahme in die Klinik: Schlechter Ernährungszustand, blasse Hautfarbe. Leber und Milz fühlbar, letztere überragt den Rippenbogen um 2 Querfinger. Kein Ascites. Keine Knochenempfindlichkeit. Blut: 52% Hb., 2430000 R., 19950 W. Ziemlich viel Ringformen, mäßig starke Poikilocytose, geringe Anisocytose und Polychromasie. Auf 100 W. 4 Normoblasten. Keine Myelocyten. — An den Knochen waren weder durch Betastung noch durch eine Reihe Röntgenbilder Anomalien auffindbar.

Der Urin enthielt 4 bis 10% Eiweiß (nach Esbach gemessen), und zwar ausschließlich Bence-Jonessche Eiweißkörper. Im Sediment reichlich hyaline und Salzzylinder, einige zum Teil verfettete Nierenepithelien. Spärlich rote und weiße Blutkörperchen. Die Urinmenge schwankte zwischen 1600 und 2600 ccm.

Über das weitere Schicksal des Kranken, der bis zum 11. III. 09 in der Klinik blieb, war leider nichts zu eruieren.

In Analogie mit ähnlichen Fällen wird man wohl nicht fehl gehen, wenn man die Diagnose auf multiple Myelome stellt.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 200, 1900.

Kaninchen mit Menschenblut erhalten war und hierfür den Titer 1:1500 besaß. Wir versuchten es nun gegen Bence-Jones-Verdünnungen auszuwerten. Dieses Serum gab mit Bence-Jonesschem Eiweißkörper bis zur Verdünnung 1:1000 deutliche Präcipitation, während es mit dem Serum anderer Tiere nicht einmal in der Verdünnung 1:100 die geringste Trübung erzeugte.

Daß es sich in unserem Falle in der Tat um den Bence-Jonesschen Eiweißkörper handelte, bewies das Verhalten des Urins: Der frische Urin reagierte schwach sauer, er war nicht trübe, zeigte aber eine leichte weißliche Opalescenz, die auch beim Zentrifugieren nicht verschwand. Beim Erwärmen auf 60 bis 70° trat ein dicker Niederschlag auf, der sich beim Kochen fast völlig löste und beim Abkühlen wieder ausfiel.

Bei wiederholtem Erhitzen und Abkühlen blieb in der Siedehitze — wie dies auch Magnus-Levy beobachtet hatte — ein immer größerer Anteil ungelöst. Auch der längere Zeit mit Chloroform und Toluol aufbewahrte Urin gab beim Erhitzen einen Niederschlag, der beim Kochen zum Teil ungelöst blieb.

Durch Ausfällen des Bence-Jonesschen Eiweißkörpers mit Alkohol, Lösen in dünnem Ammoniakwasser und Neutralisieren konnte der Eiweißkörper in eine Lösung gebracht werden, in der er beim Erhitzen sich zu absoluter Klarheit löste. Dieses von Magnus-Levy angegebene Verhalten beweist, daß neben dem Bence-Jonesschen Eiweißkörper kein anderes Eiweiß im Urin vorhanden war.

Mit konz. Salpetersäure trat in der Kälte ein Niederschlag auf, der sich beim Kochen löste und beim Abkühlen wieder erschien.

Mit Essigsäure und Ferrocyankalium entstand ein Niederschlag, der sich in der Siedehitze nicht vollständig löste.

Der Urin gab die Biuretreaktion mit rot-violetter Farbe.

Durch Versetzen mit dem doppelten Volumen 96 %igen Alkohols wurde der Bence-Jonessche Eiweißkörper vollständig ausgefällt.

Die Darstellung des Bence-Jonesschen Eiweißkörpers aus dem Urin konnte für unsere Versuche in sehr einfacher Weise geschehen. Der Urin wurde in Einzelportionen von 2 bis 3 l auf ca. 60° erwärmt, mit Essigsäure angesäuert,

bis der Niederschlag nicht mehr stärker wurde, und dann kurz aufgekocht. Nach völligem Erkalten wurde filtriert, der auf dem Filter gesammelte Niederschlag wiederholt mit schwach essigsaurem Wasser ausgewaschen, bei 40 bis 50° getrocknet und pulverisiert.

Wir erhielten auf diese Weise ein schwach gelblich gefärbtes Rohprodukt von 10,94% Stickstoffgehalt, das danach etwa zu $^2/_3$ aus Bence-Jonesschem Eiweißkörper bestand (nach Magnus-Levy hat dieser einen N-Gehalt von 15,57%).

Eine weitere Reinigung des so erhaltenen Rohprodukts war für die vorliegenden Versuche nicht erforderlich.

Fütterungsversuche mit dem Bence-Jonesschen Eiweißkörper.

Als Versuchstiere dienten kleine und mittelgroße Hunde, die — meist nach zweitägigem Hungern — den Bence-Jonesschen Eiweißkörper in Milch verrührt erhielten und gern nahmen. Nur einmal (Versuch 4) trat danach Erbrechen ein. Sonstige Störungen des Allgemeinbefindens wurden nicht beobachtet.

Die weitere Versuchsanordnung war von der in früheren Versuchen mit Hemielastin gehandhabten nicht wesentlich verschieden.

Die Tiere wurden 5 bis 6 Stunden nach der Nahrungsaufnahme durch Entbluten aus der Pfortader getötet, nachdem zuvor aus der Carotis eine größere Menge Blut entnommen worden war. Das zur serologischen Untersuchung notwendige Blut wurde gleichfalls aus der Carotis entnommen und alsbald zentrifugiert. Zur chemischen Untersuchung kamen außer Pfortader- und Carotisblut Magen- und Dünndarmwand, Leber, Milz, Nieren, Muskulatur, die nach gründlicher Reinigung mit der Fleischhackmaschine gut zerkleinert wurden. Blut und Organbreie wurden nun mit der 5 bis 10fachen Menge Wasser versetzt, mit Essigsäure schwach angesäuert, gekocht und durch Heißwassertrichter filtriert. Das Filtrat wurde auf ein kleines Volumen eingeengt, ev. nochmals bei 100° filtriert und dann auf das Vorhandensein von Bence-Jonesschem Eiweißkörper untersucht.

Versuch 1.

Ein männlicher Terrier von 7 kg Körpergewicht erhält nach zweitägigem Hungern am 29. IX. 09, 10 Uhr vorm. per os 20 g des Rohprodukts (= ca. 14 g Bence-Jonesschen Eiweißkörper) in warmer Milch.

$3^1/_2$ Uhr nachm. Tötung des Tieres. Aus der Pfortader werden 85 ccm Blut zur chemischen Verarbeitung gewonnen. Nach Enteiweißen und Einengen auf ca. 5 ccm wird aus dem Pfortaderblut eine klare Flüssigkeit erhalten, die beim Erwärmen einen sehr deutlichen flockigen Niederschlag ausfallen läßt, der sich beim Kochen fast vollständig wieder löst und nun beim Erkalten ungelöst bleibt.

In Leber, Milz, Nieren, Magen- und Dünndarmwand wurde der Bence-Jonessche Eiweißkörper nicht wiedergefunden.

Urin konnte in diesem Falle leider nicht erhalten werden.

Auch die serologische Untersuchung unterblieb in diesem Versuch.

Hier konnte also mit Sicherheit der Nachweis geführt werden, daß der Bence-Jonessche Eiweißkörper die Darmwand passiert hatte und ins Pfortaderblut übergetreten war. Es sei dazu bemerkt, daß bei der Sektion keinerlei Erscheinungen einer Darmerkrankung, die ja möglicherweise einen solchen Übertritt begünstigen könnte, gefunden wurden.

Versuch 2.

Ein männlicher Hund von ca. 15 kg Körpergewicht erhält nach zweitägigem Fasten am 6. X. 09, 10 Uhr vorm., 20 g Rohprodukt (= 14 g Bence-Jonesschen Eiweißkörper) in der gleichen Weise. Tötung $3^1/_2$ Uhr nachm., nachdem vorher 20 ccm Blut zur serologischen Untersuchung aus der Carotis entnommen waren.

In Pfortader- und Carotisblut (je 260 ccm), Leber, Milz, Nieren, Magen- und Dünndarmwand wird keine Spur des Eiweißkörpers wiedergefunden. Der Urin ist eiweißfrei.

Auf serologischem Wege gelang es jedoch hier, ein positives Resultat zu erzielen. Man konnte — unter Einhaltung der üblichen Kontrollen — in dem Serum des Hundes in der Verdünnung 1:100 grobflockige, 1:1000 schwächere, aber deutliche Präcipitatbildung erkennen.

Im nächsten Versuche waren die Versuchsbedingungen ganz die gleichen wie im ersten Versuch.

Versuch 3.

Ein weiblicher Hund von 8200 g Körpergewicht erhält nach zweitägigem Fasten am 26. X. 09, $^1/_2$10 Uhr vorm., 25 g Rohprodukt (= 16 g Bence-Jonesschen Eiweißkörper) in der gleichen Weise. Tötung 3 Uhr nachm. durch Entblutung aus Pfortader und Carotis.

Weder im Blut noch in den untersuchten Organen (Leber, Milz, Nieren, Magen- und Dünndarmwand) findet sich eine Spur des Bence-Jonesschen Eiweißkörpers. — Der Urin ist eiweißfrei.

Auch hier gelang es serologisch sicher durch den Präcipitationsversuch mit dem 1:100 verdünnten Serum das Vorhandensein von Eiweiß menschlicher Provenienz zu konstatieren.

Ein günstigeres Resultat hinsichtlich des chemischen Nachweises des Bence-Jonesschen Eiweißes ergab wieder der letzte Versuch.

Versuch 4.

Ein weiblicher Hund von 9250 g Körpergewicht erhielt nach eintägigem Fasten am 17. XII. 09, 10 Uhr vorm., 30 g des Rohprodukts (= 20 g Bence-Jonesschen Eiweißkörper) in Milch. Davon wurden nach 1 Stunde ca. 100 ccm Flüssigkeit erbrochen, in der Bence-Jonessche Eiweißkörper mit Leichtigkeit nachweisbar war. Tötung 3 Uhr nachm. Da frühzeitig Narkosetod eintrat, konnte in diesem Falle aus der Pfortader kein Blut aufgefangen werden. In 250 ccm Blut, das zum Teil aus der Carotis, zum Teil aus dem Herzen stammte, wurde nach dem Enteiweißen und Einengen zunächst Bence-Jonesscher Eiweißkörper nicht nachgewiesen. Dagegen gelang der Nachweis durch Ausfällen beim Erwärmen und Lösen des Niederschlags in der Siedehitze nach Zusatz von etwas Kochsalz und 2 Tropfen verdünnter Essigsäure.

In Leber, Milz, Nieren, Muskulatur (Magen- und Dünndarmwand) fehlte wieder die für den Bence-Jonesschen Eiweißkörper charakteristische Reaktion.

Im Blute konnten wir hier auch serologisch das Vorhandensein von Menscheneiweiß nachweisen. Unser Kaninchenserum erzeugte noch in dem Hundeserum in der Verdünnung 1 : 100 einen deutlichen, 1 : 200 einen nur fraglichen Niederschlag.

Wir zogen infolge dessen hier zur Sicherung der Diagnose die Komplementbindungsmethode heran, die denn auch spezifische komplette Hemmungen ergab (0,1 Hundeserum + 0,02 Kaninchenserum).

Die Frage, ob in den Organen Bence-Jonesscher Eiweißkörper vorhanden sei oder nicht, gelang uns nicht mit Hilfe der serologischen Methoden zu entscheiden. Mittels der Präcipitation nicht, da es uns nicht möglich war, ein klares Extrakt zu erhalten, mit der Komplementbindungsmethode konnten wir auch keine Entscheidung abgeben, da auch die Organextraktkontrollen allein die Hämolyse völlig gehemmt hatten.

Durch diese Versuche erscheint uns einwandfrei erwiesen, daß ein Eiweißkörper unter Erhaltung seiner Artspezifität

und ohne abgebaut zu sein, durch die Darmwand ins Blut übertreten kann.

Schlüsse über die Menge des unverändert resorbierten Eiweißkörpers lassen unsere Versuche aber nicht zu. Insbesondere ist der negative Ausfall der chemischen Proben zum Nachweis des Bence-Jonesschen Eiweißkörpers in Versuch 2 und 3 nicht unbedingt auf die geringe Menge des vorhandenen Eiweißkörpers zurückzuführen; die zum Nachweis desselben benutzte Reaktion ist nämlich durchaus abhängig zu denken vom Salz- und Säuregehalt der Lösung — Momenten, die bei der eingeschlagenen Versuchsanordnung nicht wesentlich beeinflußt werden konnten. So kam es auch, daß der chemische Nachweis in Versuch 4 erst gelang, nachdem der Salz- und Säuregehalt modifiziert worden war.

Natürlich kann durch unsere Untersuchungen, die durch zahlreiche Forschungen sicher fundierte Lehre vom weitgehenden Eiweißabbau im Darm selbst keinerlei Anfechtungen erfahren.

Dagegen muß hier betont werden, daß keinerlei strikte Beweise dafür vorliegen, daß die ganze eingeführte Menge des Nahrungseiweißes tief abgebaut sein muß, bevor sie zur Resorption gelangt.

Wenn es auch gewiß unstatthaft ist, aus unseren Versuchen ohne weiteres Analogieschlüsse auf die natürlichen Verdauungsvorgänge überhaupt zu ziehen, schon weil der Bence-Jonessche Eiweißkörper sich in vielen Beziehungen von den gewöhnlichen Eiweißkörpern unterscheidet, wenn er auch artspezifisch ist: so erscheinen unsere Versuche doch dazu angetan, das Dogma von der Undurchlässigkeit der Darmwand für Eiweißkörper zu erschüttern.

Das Hemielastin war der erste Eiweißkörper, für den es gelang nachzuweisen, daß er die Darmwand passiert.

In dieser Arbeit haben wir den Nachweis erbracht, daß es nach Verfütterung von Bence-Jonesschem Eiweißkörper in nicht abundanter Menge gelingt, beim Hunde auf chemischem und serologischem Wege diesen Eiweißkörper im Blut wiederzufinden.

Über die Tryptophan-Aldehyd-Reaktion.

Von

Geo. W. Heimrod und P. A. Levene.

(Aus dem Rockefeller Institute for Medical Research zu New York.)

(Eingegangen am 22. Februar 1910.)

Hopkins und Cole[1]) haben vor längerer Zeit bewiesen, daß die von Adamkiewicz vorgeschlagene Farbenreaktion auf Eiweiß nicht auf einer Verbindung des Eiweiß mit der hierbei verwendeten Essigsäure beruht, sondern mit der in der Essigsäure häufig vorkommenden Glyoxylsäure. Seitdem wird die Probe immer so angestellt, daß man einige Tropfen Glyoxylsäurelösung mit der Eiweißlösung vermischt — am besten 1 Tropfen verdünnter Ferrisalzlösung hinzufügt — und mit konz. Schwefelsäure unterschichtet. In einer späteren Mitteilung hat Cole[2]) dann nachgewiesen, daß der hierbei entstehende rote oder violette Farbstoff nur bei Gegenwart der Tryptophangruppe im Eiweißmolekül entsteht. Ferner hat er gezeigt, daß der in Tryptophan vorhandene Indolring der Farbstoffbildner ist, da mit Indol und Skatol ähnliche Färbungen mittels Glyoxylsäure erhalten werden. Man hat demnach diese Reaktion als spezifisch für die Gegenwart der Indolgruppe einerseits und der Glyoxylsäure anderseits angesehen.

Nun sind von anderer Seite später ähnliche „Eiweiß"-Farbenreaktionen vorgeschlagen. Bei näherer Untersuchung aber hat sich, wie wir sehen werden, stets erwiesen, daß dieselben der eben besprochenen Reaktion völlig analog sind, d. h. sie beruhen auf der Gegenwart der Tryptophangruppe einerseits und der Glyoxylsäure oder eines derselben ähnlichen Körpers, also der Aldehydgruppe, anderseits. So hat Cole[3]) gezeigt, daß

[1]) Proc. Roy. Soc. 68, 21 bis 33.

[2]) Journ. of Physiol. 27, 418, 1901; 29, 451, 1903.

[3]) Journ. of Physiol. 30, 311, 1904.

die schöne Blaufärbung der Eiweißkörper bei der Liebermannschen[1]) Reaktion — bei der festes Eiweiß mit Alkohol und Äther gewaschen und dann mit konz. Salzsäure gekocht wird — auf der Gegenwart von aldehydartigen Oxydationsprodukten des bei der Probe zu verwendenden Äthers beruht. Als diesen Körper glaubt er Glyoxylsäure festgestellt zu haben, so daß die Liebermannsche Probe nur als eine unsichere und umständliche Ausführungsform der Glyoxylsäureprobe anzusehen wäre.

Eine dritte, von Reichl[2]) beschriebene Probe mit Benzaldehyd — der beim Erhitzen des in 50%iger Schwefelsäure gelösten Eiweißes bei Gegenwart eines Tropfens Eisensalzlösung eine schöne blaue Färbung zeigt — ist ebenfalls von Cole[3]) als Tryptophanreaktion erkannt worden. Statt Benzaldehyd läßt sich auch Salicylaldehyd, Vanillin, Cumarin oder Furfurol verwenden. Als Abart ist wohl auch die von Cole[4]) angegebene Methode des Erhitzens von Eiweißkörpern mit ein wenig Rohrzucker und konz. Salzsäure oder 50%iger Schwefelsäure anzusehen, hierbei entsteht wahrscheinlich aus Rohrzucker ein Derivat des Furfurols, das mit der Tryptophangruppe zur Bildung des violetten Körpers führt. Nach Abderhalden und Kempe[5]) tritt die Reaktion nur mit Fructose, Rohrzucker und Raffinose auf, während Glucose, Galaktose und Mannose nur undeutlich Reaktionen zeigen, Arabinose und Xylose dagegen schmutzigbraune Färbungen ergeben. Da bei Cole und bei Abderhalden und Kempe nur Fructose und fructosehaltige Verbindungen Färbungen ergeben, so vermuten wir, daß bei diesen Versuchen die Fructose allein entweder direkt oder indirekt mit der Tryptophangruppe zur Reaktion kommt.

Endlich ist der von Hehner[6]) zuerst beschriebenen, außerordentlich empfindlichen Probe auf Formaldehyd in Milch zu gedenken, in der eine Eiweißlösung (Milch) bei Gegenwart oxydierender Mittel (z. B. $FeCl_3$) mit konz. Schwefelsäure unterschichtet wird. Bei Gegenwart von Formaldehyd entsteht an der Berührungsfläche ein violetter Ring. Die von Leach[7]) später vorgeschlagene Methode, die zu prüfende Milch mit konz. Salzsäure zu kochen, ist nur eine Modifikation der Hehnerschen Probe, worauf schon Leonard und Smith[8]) aufmerksam machten. Ist nun diese Hehnersche Reaktion schon in der Ausführungsform wie in der erzielten Färbung ohne weiteres den zuvor erwähnten Proben sehr

[1]) Centralbl. f. med. Wiss. 1887, 321 u. 450. — Jahresber. f. Tierchemie 17, 8, 1887.

[2]) Monatsh. f. Chem. 10, 317, 1889; 11, 155, 1890. — Jahresber. f. Tierchemie 19, 10, 1889; 20, 8, 1890.

[3]) Journ. of Physiol. 30, 311, 1904.

[4]) Ibid.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 52, 207, 1907.

[6]) The Analyst 21, 94. — Chem. Centralbl. 1, 1145, 1896.

[7]) The Analyst 1901, 289.

[8]) The Analyst 24, 86. — Chem. Centralbl. 1, 1166, 1899. — Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 2, 899.

ähnlich, so wird dies noch weit deutlicher, wenn man in Betracht zieht, daß Acree[1]) diese Probe mit allen Eiweißkörpern erhalten konnte. Rosenheim[2]) dagegen bewies, daß dieselbe einzig von der Tryptophangruppe abhängt und daß Indol und Skatol ganz ähnliche Färbungen mit Formaldehyd geben. Nun hat zwar Liebermann[3]) neuerdings diese Reaktion zum Überfluß nochmals als Reaktion auf „Eiweiß" vorgeschlagen, ohne die soeben erwähnten Arbeiten zu zitieren; aber wie schon gezeigt ist, muß sie ganz analog der Glyoxylsäure- oder der Reichlschen Reaktion und ihren Abarten nur als Indicator für Tryptophan angesehen werden.

Wahrscheinlich haben wir es bei diesen Reaktionen mit einer Farbstoffbildung durch Kondensation des Indolrings mit einem der erwähnten Aldehyde oder dessen Oxydationsprodukten zu tun. Letzteres ist deswegen wahrscheinlich, weil die Reaktionen wesentlich sicherer ausfallen, wenn Oxydationsmittel, wie $FeCl_3$ oder H_2O_2, zugegen sind. Ist es nun aber eine so häufig wiederkehrende Eigenschaft der Tryptophangruppe, mit Aldehyden zu Farbstoffen zu kondensieren, so muß es überraschen, daß von sämtlichen Aldehyden der Fettreihe nur Formaldehyd dieser Reaktion fähig sein soll, während die Glyoxylsäure, mehrere Benzolderivate sowie endlich Furfurol so leicht Kondensationen unterliegen.

Zwar ist die Spezifizität der Hehnerschen Probe auf Formaldehyd bereits von mehreren Seiten angezweifelt worden. So fand Lindet[4]) bei der Untersuchung von denaturiertem Alkohol, daß einige höhere Aldehyde dieselbe Violettfärbung geben, Acetaldehyd aber zum Beispiel nicht. Neuerdings hat Friese[5]) behauptet, daß die Violettfärbung bei der Hehnerschen Probe nicht einzig auf Formaldehyd hinweise, ohne aber diese Ansicht näher zu begründen. Diesen gegenüber hat v. Fellinger[6]) kürzlich nachgewiesen, daß „die Reaktion keine allgemeine Aldehydreaktion ist, sondern nur dem Formaldehyd zukommt".

Uns war nun vor längerer Zeit beim Arbeiten mit Glykolaldehyd aufgefallen, daß unter gewissen, nicht immer zu kontrollierenden Umständen eine dem Hehnerschen Violett sehr ähnliche Färbung mit Glykolaldehyd erzielt werden konnte, die

[1]) Journ. of Biolog. Chem. 2, 145.

[2]) The Analyst 32, 106. — Chem. Centralbl. 1, 1809, 1907.

[3]) Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 16, 231, 1908.

[4]) Bull. de l'Assoc. de Chim. de Sucr. et Diast. 22, 475. — Chem. Centralbl. 1, 469, 1905.

[5]) Arb. a. d. hyg. Inst. zu Dresden 2, 109. — Chem. Centralbl. 1, 301, 1908.

[6]) Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 16, 226, 1908.

aber sehr schnell in Braun überging. Da dies letztere nur der Wirkung der starken Schwefelsäure zuzuschreiben war, so haben wir andere Säuren benutzt, wobei es uns gelungen ist, die Hehnersche Probe so zu modifizieren, daß sie mit allen uns zur Verfügung stehenden Aldehyden ausgeführt werden konnte. Am besten hat sich hierzu Phosphorsäure[1]) erwiesen, mit der man die zu prüfende Lösung vermischt, bevor man mit konz. Schwefelsäure unterschichtet. Z. B. kann man 1 ccm der zu prüfenden Lösung mit 1 oder 2 ccm Phosphorsäure, 1 Tropfen einer phosphorsauren Lösung von Tryptophan (zu viel Tryptophan macht die Reaktion weniger empfindlich) und 1 Tropfen einer 5%igen $FeCl_3$-Lösung vermischen. Sollte Erwärmung eingetreten sein, so kühlt man ein wenig unter der Leitung und läßt ein ungefähr gleiches Volumen konz. Schwefelsäure vorsichtig am Rande entlang zufließen. Es empfiehlt sich, das Rohr so lange stehen zu lassen, bis an der Kontaktstelle die gefärbte Zone sich gebildet hat. Diese Vorsichtsmaßregel ist wichtig hauptsächlich bei den höheren Aldehyden, die in Wasser nur wenig löslich sind.

Statt Tryptophan läßt sich mit gleich gutem Erfolge eine 1%ige Casein- oder Witte-Pepton-Lösung verwenden, oder jede andere tryptophanhaltige Eiweißsubstanz, endlich auch Indo oder Skatol.

Auf diese Weise sind Formaldehyd, Acetaldehyd, Paraldehyd[2]), Propylaldehyd, Butylaldehyd, Isobutylaldehyd, Valeraldehyd, Glykolaldehyd, Glycerinaldehyd, Benzaldehyd, o-Nitrobenzaldehyd, Glyoxylsäure, Glyoxal und Aldol mit positivem Befunde untersucht worden. Bei den höheren Aldehyden der Fettreihe scheint die Reaktion nicht sehr empfindlich zu sein, dagegen tritt sie beim Benzaldehyd und beim Glykolaldehyd schon beim Erwärmen der Phosphorsäure-Tryptophan-$FeCl_3$-Mischung ohne Zusatz von Schwefelsäure ein. Bei den Benzolderivaten scheint diese Ausführungsform sogar sicherer zu sein. o-Nitrobenzaldehyd gibt hierbei eine Dunkelgrünfärbung, Benzaldehyd und

[1]) Wir haben eine Säure vom spez. Gewicht 1,7 benutzt, doch läßt sich auch verdünntere Säure verwenden.

[2]) Paraldehyd selbst gibt wahrscheinlich keine Färbung, es ist vielmehr der aus demselben durch Säurewirkung entstehende Acetaldehyd für die Reaktion verantwortlich.

Glykolaldehyd ein schönes tiefes Blau, während mit Glyoxal nur schwer eine Färbung zu erzielen ist, offenbar weil die Häufung der Aldehydgruppen die Empfindlichkeit der Säure gegenüber sehr erhöht. Furfurol endlich gab zwar nicht die nach der Reichlschen Probe zu erwartende Blaufärbung, sondern eine rote, nach Braun zuneigende Färbung, die charakteristisch zu sein scheint.

Von den höheren Zuckern wurden Arabinose, Xylose, Mannose, Galaktose, Rohrzucker und Milchzucker geprüft. In der Kälte und bei vorsichtigem Vermischen entstehen nur bei längerem, tagelangem Stehen rötlichbraune Färbungen, wird aber die phosphorsaure Lösung erst einige Minuten erwärmt, dann auf Zimmertemperatur abgekühlt, so bilden sich schnell Färbungen, die denen der Furfurolprobe ähnlich sind. Offenbar tritt hierbei ganz wie bei der von Cole beschriebenen Probe Zersetzung des Zuckers ein, doch scheint diese Ausführungsform weit empfindlicher.

Die mit Indol und Skatol erhaltenen Färbungen scheinen keineswegs so intensiv als mit Tryptophan zu sein.

Endlich sei erwähnt, daß keine dieser Färbungen auftritt, wenn statt Tryptophan oder tryptophanhaltigen Eiweißkörpern Gelatine benutzt wird.

Aus alledem ist also zu ersehen, daß die im Eiweißmolekül vorkommende Tryptophangruppe oder der hierin enthaltene Indolring unter geeigneten Bedingungen ganz allgemein zu Kondensationen mit der Aldehydgruppe befähigt ist. Die hierbei entstehenden Färbungen sind daher charakteristisch für das Vorhandensein der Tryptophangruppe resp. des Indolrings einerseits oder der Aldehydgruppe anderseits. Die Reaktion läßt sich demnach als Probe auf jede dieser beiden Gruppen benutzen. Selbstverständlich kann demnach auch jeder Aldehyd als Reagens auf Eiweiß dienen, insoweit dieses die Tryptophangruppe enthält, nur muß man stets im Auge behalten, daß bei einzelnen Aldehyden wegen der verschiedenen Empfindlichkeit negative Resultate nicht unbedingt auf Abwesenheit von Eiweiß zu schließen berechtigen. Jedenfalls wird man sich mit Vorteil der empfindlicheren Aldehyde, des Acetaldehyds, Glykolaldehyds, der Glyoxylsäure oder des Benzaldehyds bedienen. Da aber die Genauigkeit des Tryptophannachweises mit der hier an-

gegebenen Modifikation den bisher empfohlenen Verfahren gegenüber kaum erhöht werden kann, so hat diese Modifikation für die praktische Ausführung des Eiweißnachweises keine große Bedeutung.

Dagegen läßt sich Tryptophan als Reagens auf Aldehyd immer dort der Silberreduktion gegenüber mit Vorteil benutzen oder kann dieselbe voll ersetzen, wenn Substanzen in Lösung sind, die bei der Silberprobe störend wirken. So ist z. B. bei der Oxydation organischer Stoffe mittels Wasserstoffsuperoxyd die Entstehung von Aldehyden leicht nachzuweisen, wobei die Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd den Zusatz von $FeCl_3$ unnötig macht, während bei der Tollensschen Probe H_2O_2 selbst Ag-Ionen reduziert.

Ist nun zwar in der hier beschriebenen Modifikation der Hehnerschen Farbreaktion eine allgemeine Probe auf Aldehyde zu erblicken, so scheint bei der gewöhnlichen Ausführungsform, wie v. Fillinger gezeigt hat, der Formaldehyd allein imstande zu sein, Violettfärbung zu geben. Die gegenteiligen Befunde von Lindet sind vielleicht dadurch zu erklären, daß er, wie wir erst nach Abschluß dieser Arbeit fanden, ebenfalls schon Phosphorsäure verwendet hat und dadurch unseren Versuchsbedingungen sehr nahe gekommen ist. Bei der Milchuntersuchung oder auch bei Eiweiß- und Tryptophanlösungen darf demnach bei positiver Hehnerscher Probe (ohne H_3PO_4) trotzdem auf Gegenwart von Formaldehyd geschlossen werden, besonders da bei Milch von Aldehyden nur der Formaldehyd als Konservierungsmittel Anwendung findet.

Aber andererseits läßt sich bei gleichzeitiger Anwendung der Hehnerschen Probe mit der hier beschriebenen Phosphorsäureprobe zwischen Formaldehyd und allen anderen Aldehyden leicht differenzieren. Tritt nach ersterer Bräunung, nach letzterer aber Violettfärbung ein, so ist irgend ein Aldehyd, Formaldehyd ausgeschlossen, zugegen. Tritt beiderseits Violettfärbung ein, so ist Formaldehyd allein oder in Mischung mit anderen Aldehyden vorhanden, während nur das völlige Versagen beider Proben alle Aldehyde ausschließt.

Über den Atmungsstoffwechsel der Nervenfasern nach deren Resektion.

Von

Vittorio Scaffidi.

(Aus dem Inst. f. allg. Pathologie der K. Universität zu Neapel.)

(Eingegangen am 20. Februar 1910.)

Mit 1 Figur im Text.

Mit vorliegenden Versuchen habe ich angestrebt, die Veränderungen, die sich im Atmungsstoffwechsel des Nervengewebes nach Läsion der Fasern und der Markscheiden abspielen, darzutun.

Als Versuchsmaterial wurde das Rückenmark des Frosches gewählt, nachdem Versuche am Ischiadicus dieses Tieres aufgegeben wurden, da die geringe Menge des Gewebes mir zu kleine Werte lieferte.

Die hier angegebenen Werte sind mittels des Thunbergschen[1]), nach Winterstein modifizierten Mikrospirometers bestimmt worden. Dieser Apparat besteht, wie bekannt, aus zwei kleinen, hermetisch verschließbaren Glasgefäßchen, die vermittels geeignet angebrachter Hähnchen unter sich und mit dem Außenraume in Verbindung gesetzt werden können. Die Verbindung zwischen den beiden Kammern wird durch eine feine Capillarröhre vermittelt, die eine Skala zum Ablesen trägt und in die ein Tropfen Petroleum gebracht wird. Setzt man das zu untersuchende Gewebe in eine der beiden Kammern und stellt dann die Verbindung zwischen dieser und der andern so her, daß die beiden Räume nur durch den Petroleumtropfen in der Capillarröhre getrennt sind, so verschiebt sich dieser Tropfen in der Röhre, sobald das Gewebe atmet. So kann man die Menge an O_2 feststellen, die ein Gewebe in einer bestimmten Zeit aufnimmt, wenn man vor Beginn des Versuches beide Gefäßchen des Apparates mit Sauerstoff gefüllt und auf ihren

[1]) Thunberg, Skand. Arch. f. Phys. 17.

Grund einige Tropfen NaOH gebracht hat, die die abgegebene CO_2 binden. Füllt man die Gefäßchen mit Luft oder Sauerstoff, so kann man feststellen, ob der Respirationsquotient höher oder niedriger als die Einheit sei, je nachdem sich der Petroleumtropfen in der Capillarröhre gegen die Kammer hin verschiebt, die nur das Gas enthält oder gegen jene, in der das Gewebstückchen aufgehängt worden ist.

Zu jedem Versuche wurde das Rückenmark eines Frosches vom Bulbus bis zum Schwanzende sorgfältig aus dem Rückgratkanal ausgeschält, genau gewogen und in eine der Kammern des Apparates aufgehängt. Der ganze Apparat wurde dann in ein Glasgefäß voll Wasser versenkt und dort während 3 Stunden gelassen. Die Versuche sind im Winter bei einer Zimmertemperatur von 11 bis 13° C ausgeführt worden.

Als Kontrollversuche zu den, an in Degeneration begriffenem Rückenmarke ausgeführten Bestimmungen, stellte ich gleichzeitig eine Serie von Experimenten in Gang über den Atmungsstoffwechsel des normalen Froschrückenmarkes. Die Ergebnisse dieser Kontrollversuche sind hier kurz angegeben.

1. Verbrauch von Sauerstoff.

Versuch 1. Rana esculenta, ♂ von 20 g Körpergewicht. Das Tier wird geköpft, das Rückenmark in ganzer Länge aus dem eröffneten Rückgratkanal sorgfältig ausgeschält. Es wiegt 0,0434 g. Nach 3 Stunden hat dasselbe im Mikrospirometer 26,39 cmm Sauerstoff verbraucht, d. h. 608 cmm O_2 pro 1 g Gewebe. Die Zimmertemperatur während des Versuches betrug 12° C.

Versuch 2. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 22 g. Gewicht des Rückenmarkes 0,0416 g. Verbrauch von O_2 nach 1 Stunde 8,5 cmm = 204 cmm pro Gramm. Verbrauch von O_2 nach 3 Stunden 24 cmm = 577 cmm pro Gramm. Zimmertemperatur 12° C.

Versuch 3. Rana temporaria, ♂. Körpergewicht 20 g. Gewicht des Rückenmarkes 0,0424 g. Verbrauch von O_2 nach 3 Stunden 27 cmm = 638,8 cmm pro Gramm. Zimmertemperatur 12° C.

Versuch 4. Rana temporaria, ♂. Körpergewicht 25 g. Gewicht des Rückenmarkes 0,0486 g. Verbrauch von O_2 nach 1 Stunde 9,9 cmm = 210 cmm pro Gramm, nach 3 Stunden 29,03 cmm = 617 cmm pro Gramm. Temperatur 12° C.

Versuch 5. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 28 g. Gewicht des Rückenmarkes 0,0624 g. Verbrauch von O_2 nach 1 Stunde 12 cmm = 192 cmm pro Gramm, nach 3 Stunden 39 cmm = 625 cmm pro Gramm. Temperatur 12° C.

Versuch 6. Rana temporaria, ♀. Körpergewicht 35 g. Gewicht des Rückenmarkes 0,0801 g. Verbrauch von O_2 nach 3 Stunden 42,53 cmm = 651,7 cmm pro Gramm. Temperatur 13° C.

Versuch 7. Rana temporaria, ♀. Körpergewicht 25 g. Gewicht des Rückenmarkes 0,0452 g. Verbrauch von O_2 nach 3 Stunden 24 cmm = 531 cmm pro Gramm. Temperatur 13° C.

In beigegebener Tabelle I sind die in jedem Versuche bestimmten Werte zusammengestellt und gleichzeitig die, pro Gramm Rückenmark und pro Stunde, berechnete Menge des verbrauchten O_2 angegeben.

Tabelle I.

Nr. des Versuches	Gewicht des Rückenmarkes g	Verbrauch von O_2 in 3 St. cmm	Verbrauch von O_2 pro Gramm Rückenmark in 3 St. cmm	in 1 St. cmm
1	0,0434	26,39	608,0	202,7
2	0,0416	24,00	577,0	192,3
3	0,0416	27,00	638,8	212,9
4	0,0486	30,03	617,3	206,4
5	0,0624	39,00	625,0	208,3
6	0,0801	42,53	651,7	217,2
7	0,0452	24,00	531,0	177,0
		Mittel	606,9	202,3

Aus den in Tabelle I zusammengestellten Werten ist ersichtlich, daß das normale Rückenmark des Frosches in 3 Stunden von 531 cmm bis zu 651 cmm O_2 aufnehmen kann (siehe Versuch 7 und 6) mit einem Mittel von 606,9 cmm = 202,3 cmm pro Gramm und Stunde.

Diese Werte weichen von denjenigen, die Winterstein[1]) angegeben, etwas ab. Winterstein hat ausgerechnet, daß 1 g Rückenmark in 1 Stunde zwischen 260 und 300 cmm Sauerstoff verbrauche. Die von mir angeführten Werte sind merklich kleiner. Es muß jedoch bemerkt werden, daß ein genauer Vergleich zwischen den Ergebnissen Wintersteins und den meinigen nicht angestellt werden kann, da einzelne Verhältnisse unserer Versuchsserien nicht die gleichen sind. So sind meine Versuche bei einer Zimmertemperatur von 11 bis 13° C ausgeführt worden, die von Winterstein bei einer Zimmertemperatur von 16 bis 18° C. Weiter betreffen Wintersteins Angaben eine Versuchsdauer von 1 Stunde, während meine sich auf eine solche von 3 Stunden beziehen. Dieser letztere Unterschied müßte allerdings nicht sehr ins Gewicht fallen, wenn man bedenkt, daß nach Wintersteins Beobachtungen das Rückenmark, während einem Zeitraume von 6 bis 8 Stunden nach Entnahme desselben aus dem Tiere im Mikrospirometer belassen, in dem der O_2 alle 2 Stunden erneuert wird, annähernd sich gleich bleibende Mengen von O_2 verbraucht. Die Verminderung des Druckes des O_2, die in der zweiten und dritten Stunde des Experimentes in der

[1]) Winterstein, Zeitschr. f. allg. Physiol. 6, 1907.

Kammer des Mikrospirometers, die das Gewebe beherbergt, eintreten muß, kann ebenfalls keine genügende Erklärung für die Verschiedenheit zwischen den von mir und den von Winterstein bestimmten Werten liefern. Die Erklärung dieser Unterschiede ist wohl darin zu suchen, daß das Rückenmark bei 16 bis 18° C (Winterstein) lebhafter atmet als bei 11 bis 13° C (Scaffidi). Außerdem kann noch in Betracht kommen, daß Winterstein die 6 Marke, mit denen er seine Versuche angestellt hat, nicht direkt und einzeln gewogen hat, sondern erst später ein Mittel für das Gewicht eines Froschrückenmarkes feststellte, indem er eine gewisse Anzahl Marke anderer Frösche wog, die er möglichst gleich groß mit den zu den Experimenten benutzten Tieren gewählt hatte. Aus meinen Versuchen 2, 4, 5 ist zu sehen, daß in den Fällen, in denen ich den Verbrauch an O_2 auch nach der ersten Experimentstunde berücksichtigte, dieser durch die Werte 204, bzw. 210 und 192 cmm dargestellt wird, welche Werte also dem Mittel des Verbrauches von O_2 in 3 Stunden (202 cmm) sehr nahe stehen. Vergleicht man nun die von mir für den Verbrauch an O_2 des Rückenmarkes festgestellten Werte mit denjenigen, die Regnault und Reiset für den Verbrauch von O_2 pro Gramm und Stunde des gesamten Froschkörpers angegeben, so sieht man, daß das Rückenmark ungefähr 3,5 mal größere Mengen des Gases aufnimmt. Nach Wintersteins Angaben würde das Froschrückenmark ungefähr 5 mal mehr O_2 verbrauchen als das Mittel des Verbrauches der übrigen Gewebe, und nach diesem Forscher wäre aus dieser Tatsache ein Beweis zu ziehen für die Wichtigkeit des Sauerstoffes für das Zentralnervensystem.

2. Respirationsquotient.

Versuch 8. Rana esculenta. Körpergewicht 32 g. Gewicht des Rückenmarkes 0,0738 g. Der Petroleumtropfen in der Capillarröhre, die die beiden Gefäßchen des Apparates verbindet, verschiebt sich gegen das das Gewebsstückchen enthaltende Gefäß. Der Respirationsquotient ist also niedriger als die Einheit.

Versuch 9. Rana esculenta. Körpergewicht 24 g. Gewicht des Rückenmarkes 0,0486 g. Der Respirationsquotient erweist sich niedriger als die Einheit.

Versuch 10. Rana esculenta. Körpergewicht 35 g. Gewicht des Rückenmarkes 0,0654 g. Der Respirationsquotient erweist sich niedriger als die Einheit.

Unter normalen Verhältnissen ist also der Respirationsquotient des Rückenmarkes niedriger als die Einheit, wie das auch für die übrigen Gewebe des ganzen Tierkörpers meistens zutrifft.

II. In Degeneration begriffenes Rückenmark.

Das Rückenmark wurde kranial von der Lendenanschwellung durchschnitten. So wird die Degeneration der kurzen Bahnen in der Umgegend des Schnittes und die Degeneration der langen Bahnen, die zur

Lendenanschwellung absteigen, und ebenso der ansteigenden langen Bahnen, die ihren Ursprung in der Lendenanschwellung oder caudalwärts von derselben, sei es im Marke selbst oder in den intervertebralen Ganglien, haben, bewirkt. Die Resektion wurde mit einem feinen Metallspatel vorgenommen, der quer durch den Rückgratskanal gestoßen wurde, nachdem der Neuralbogen der letzten Brustwirbel sorgfältig entfernt worden war.

1. Verbrauch von O_2.

Versuch 11. Rana esculenta, ♀. Körpergewicht 35 g. 24 Stunden nach der oben beschriebenen Resektion wird dem geköpften Tiere das Rückenmark bis zum Caudalende entnommen. Gewicht des Rückenmarks 0,0586 g. In 3 Stunden verbraucht es 55,8 cmm O_2. Zimmertemperatur während des Versuches 12° C.

Versuch 12. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 27 g. Die Resektion des Rückenmarks war ca. 36 Stunden vor Beginn des Versuches vorgenommen worden. Gewicht des Rückenmarkes 0,0454 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 42 cmm. Temperatur 13° C.

Versuch 13. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 25 g. Beginn des Versuches ca. 48 Stunden nach der Resektion des Rückenmarkes. Gewicht des Rückenmarkes 0,0342 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 42,9 cmm. Temperatur 13° C.

Versuch 14. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 27 g. Beginn des Versuches 48 Stunden nach der Resektion. Gewicht des Rückenmarkes 0,0598 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 70,4 cmm. Temperatur 12° C.

Versuch 15. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 28 g. Das Rückenmark war 3 Tage vor Beginn des Versuches durchtrennt worden. Gewicht des Rückenmarkes 0,0560 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 131,5 cmm = Mittel pro Gramm und Stunde 782,7 cmm O_2. Temperatur 12° C.

Versuch 16. Rana esculenta, ♀. Körpergewicht 32 g. Resektion des Rückenmarkes 3 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0387 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 64 cmm. Das ist ein Verbrauch von 1654 cmm pro Gramm und Stunde von 551,7 cmm. Temperatur 11° C.

Versuch 17. Rana temporaria, ♂. Körpergewicht 25 g. Resektion des Rückenmarkes 4 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0410 g. Verbrauch von O_2 pro Gramm und Stunde 544,7 cmm. In 3 Stunden ist der Verbrauch 1634 cmm. Temperatur 13° C.

Versuch 18. Rana temporaria, ♂. Körpergewicht 32 g. Resektion des Rückenmarkes 5 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0640 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 105 cmm = 547 cmm pro Gramm und Stunde. Temperatur 13° C.

Versuch 19. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 25 g. Resektion des Rückenmarkes 6 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0374 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 71,99 cmm = Mittel pro Stunde 23,99 cmm und 641 cmm pro Gramm. Temperatur 13° C.

Versuch 20. Rana esculenta, ♀. Körpergewicht 22 g. Resektion des Rückenmarkes 8 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0338 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 48 cmm = Mittel pro Gramm und Stunde 473,3 cmm. Temperatur 13° C.

Versuch 21. Rana temporaria, ♂. Körpergewicht 28 g. Resektion des Rückenmarkes 10 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0458 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 39,7 cmm, also 847,1 cmm pro Gramm. Mittel pro Gramm und Stunde = 282,4 cmm. Temperatur 11,5° C.

Versuch 22. Rana esculenta, ♀. Körpergewicht 35 g. Die Resektion des Rückenmarkes war 13 Tage vor dem Versuche vorgenommen worden. Gewicht des Rückenmarkes 0,0418 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 42,01 cmm = 335 cmm pro Gramm und Stunde. Temperatur 11° C.

Versuch 23. Rana esculenta, ♀. Körpergewicht 28 g. Resektion des Rückenmarkes 14 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0396 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 12,4 cmm. Mittel in 1 Stunde 8,1 cmm = 205,4 cmm pro Gramm. Temperatur 12° C.

Versuch 24. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 24 g. Resektion des Rückenmarks 15 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0442 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 39 cmm = 294,1 cmm Mittel pro Gramm und Stunde. Temperatur 12° C.

Versuch 25. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 27 g. Resektion des Rückenmarkes 16 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0408 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 25,01 cmm. Temperatur 11° C.

Versuch 26. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 23 g. Resektion des Rückenmarkes 18 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0258 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 15,6 cmm. Temperatur 12° C.

Versuch 27. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 28 g. Resektion des Rückenmarkes 21 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0458 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 32,4 cmm. Temperatur 11° C.

Versuch 28. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 24 g. Resektion des Rückenmarkes 24 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0352 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 22,8 cmm = 216,6 cmm Mittel des Verbrauches pro Gramm und Stunde.

Versuch 29. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 23 g. Resektion des Rückenmarkes 28 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0378 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 20,8 cmm = 183,4 cmm pro Gramm und Stunde. Temperatur 12° C.

Versuch 30. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 25 g. Resektion des Rückenmarkes 31 Tage vor dem Versuche. Gewicht des Rückenmarkes 0,0274 g. Verbrauch von O_2 in 3 Stunden 16 cmm = 194,7 cmm pro Gramm und Stunde. Temperatur 12° C.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß in den ersten Tagen nach der Resektion, das heißt in der Zeit, in der die Degenerationsvorgänge sich einleiten, das Rückenmark eine Menge O_2 verbraucht, die diejenige, die das normale Rückenmark aufnimmt, übertrifft.

Tabelle II.

Zahl des Versuchs	Der Versuch wurde ausgeführt nach der Resektion des Markes	Gewicht des Rückenmarkes	Verbrauch von O in 3 Stunden	Verbrauch von O_2 pro Gramm Rückenmark	
				in 3 Stunden	in 1 Stunde
		g	cmm	cmm	cmm
11	24 Stunden	0,0586	55,8	952,2	317,4
12	36 „	0,0454	42	925,1	308,4
13	48 „	0,0342	42,9	1579	526,3
14	48 „	0,0598	70,4	1177	392,3
15	3 Tage	0,0560	131,5	2348	782,7
16	3 „	0,0387	64	1654	551,7
17	4 „	0,0410	66,99	1634	544,7
18	5 „	0,0640	105	1641	547
19	6 „	0,0374	71,99	1925	641,7
20	8 „	0,0338	48	1420	473,3
21	10 „	0,0458	39,7	847,1	282,4
22	13 „	0,0418	42,01	1005	335
23	14 „	0,0396	24,4	616,1	205,4
24	15 „	0,0442	39	882,3	294,1
25	16 „	0,0408	25,01	613	204,4
26	18 „	0,0258	15,6	604,6	201,9
27	21 „	0,0578	32,4	705,7	235,2
28	24 „	0,0352	22,8	647,7	216,6
29	28 „	0,0378	20,8	550,2	183,4
30	31 „	0,0274	16	584	194,7

Rechnet man den Verbrauch von O_2 des Rückenmarkes pro Gramm aus (s. Tabelle II), so ergibt sich, daß 1 g Gewebe in 3 Stunden bis zu 952,2 cmm O_2 aufnimmt, wenn die Resektion 24 Stunden vor dem Versuch ausgeführt worden ist. Dieser Verbrauch von O_2 pro Gramm Gewebe steigt dann noch höher, bis zu 2000 cmm, am dritten Tage nach vorgenommener Resektion, und bleibt sehr hoch (1900 und 1400 cmm) zwischen dem vierten und sechsten Tage. So steigt denn auch der Verbrauch von O_2, pro Gramm und Stunde berechnet, von einem Mittel von 202,3 cmm beim normalen Marke, bei dem in Degeneration befindlichen bis zu 782,7 cmm. Dieser Wert ist der höchste, den ich erzielte, und entspricht einem Marke, das

3 Tage vor dem Versuche reseziert worden war. In den ersten 8 Tagen nach der Resektion schwankten die Werte, die den Verbrauch an O_2 pro Gramm und Stunde darstellen, zwischen 641,7 cmm (6 Tage nach der Resektion) und 308 cmm (36 Stunden nach der Resektion), welch letzterer den kleinsten dieser Periode beobachteten Wert darstellt.

In einer späteren Zeitspanne sinkt die Menge des aufgenommenen O_2 wieder beträchtlich: vom 16. bis zum 31. Tage nach der Resektion schwankt er zwischen 235,2 cmm pro Gramm und Stunde und 183,4 cmm pro Gramm und Stunde. Diese Werte sind also wieder innerhalb der Grenzen des Verbrauches an O_2, den ich beim normalen Rückenmarke aufgefunden, zuzückgesunken.

Alle diese Verhältnisse sind klar aus beigegebenem Diagramme zu ersehen.

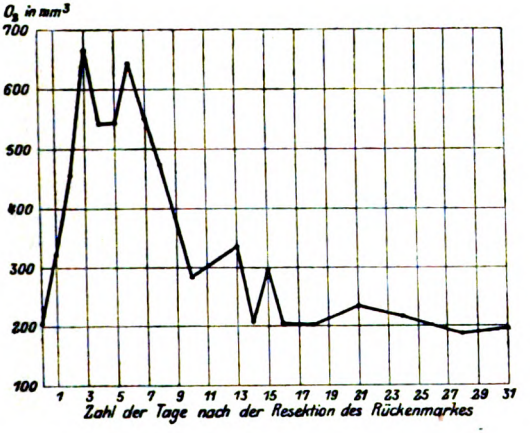


Fig. 1.

Die Schwankungen können sowohl durch die verschiedene Intensität des Degenerationsprozesses bei den verschiedenen Individuen als auch durch Unterschiede in der Zahl der in Degeneration befindlichen Fasern bedingt sein: Es ist selbstverständlich, daß die Resektion unmöglich immer auf genau gleicher Höhe des Markes vorgenommen werden kann. Aus dem Diagramme ist ebenfalls ersichtlich, daß vom 16. Tage nach der Resektion ab die Werte des Verbrauches an O_2 bei den

Atmungsversuchen innerhalb der Grenzen schwanken, die auch der Verbrauch beim normalen Rückenmark mir gegeben.

Es ist dies um so mehr bemerkenswert, da die verletzten Fibern sich in einem Zustand befinden, in dem keinerlei funktionelle Vorgänge denkbar sind. Diese Tatsache kann bedingt sein teilweise durch das Andauern einiger Verhältnisse, die, wie weiter unten ausgeführt werden wird, eine Zunahme im Verbrauch des O_2 seitens der durchschnittenen Nervenfasern nach sich ziehen, oder teilweise durch die Proliferationsvorgänge seitens der Glia und des Bindegewebes im Bereich der Markläsion.

Es kann so die Verminderung in der Menge des O_2, das das Gewebe in dieser Periode in kleinerem Maße bedürfen sollte als unter normalen Verhältnissen, verdeckt werden.

2. Respirationsquotient.

Versuch 31. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 29 g. Der Atmungsversuch wird 24 Stunden nach Durchschnitt des Rückenmarkes vorgenommen. Gewicht des Rückenmarkes 0,0460 g. Der Versuch ergibt einen Respirationsquotienten, der geringer als die Einheit ist.

Versuch 32. Rana esculenta, ♀. Körpergewicht 32 g. Versuch 3 Tage nach der Resektion des Markes. Gewicht des Rückenmarkes 0,0358 g. Respirationsquotient niedriger als die Einheit.

Versuch 33. Rana temporaria, ♂. Körpergewicht 25 g. Versuch 6 Tage nach der Resektion. Gewicht des Rückenmarkes 0,0366 g. Respirationsquotient niedriger als die Einheit.

Versuch 34. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 20 g. Versuch 7 Tage nach der Resektion. Gewicht des Rückenmarkes 0,0398 g. Respirationsquotient niedriger als die Einheit.

Versuch 35. Rana esculenta, ♀. Körpergewicht 31 g. Versuch 14 Tage nach der Resektion. Gewicht des Rückenmarkes 0,0274 g. Respirationsquotient niedriger als die Einheit.

Versuch 36. Rana esculenta, ♂. Körpergewicht 19 g. Versuch 23 Tage nach der Resektion. Gewicht des Rückenmarkes 0,0341 g. Respirationsquotient niedriger als die Einheit.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß auch nach Resektion der Nervenfasern, das ist während der Degenerationsvorgänge, denen sie nach Unterbrechung ihrer anatomischen Kontinuität anheimfallen, der Respirationsquotient sich, wie bei den normalen Nervenfasern, kleiner erhält als die Einheit.

Die histologischen Veränderungen, die sich im Rückenmarke nach der Unterbrechung der anatomischen Kontinuität

seiner Faserbündel abspielen, betreffen sowohl die Nervenfasern als die Zellelemente. Es tritt rasch eine Zersetzung der Myelinscheiden der Fasern ein, die sich durch das Auftreten der charakteristischen Myelintropfen darstellt. Gleichzeitig werden die Achsenzylinder von regressiven Vorgängen befallen. Auch die Zellen, die mit den durchteilten Fasern in Verbindung stehen, erleiden Veränderungen, die als chromatolytische Prozesse sich kennzeichnen. Alle diese Vorgänge, die eine Verminderung der Funktion des Organes bedingen, sollten mutmaßlich auch eine Verminderung im Verbrauche des O_2 nach sich ziehen.

Die Zunahme im Verbrauche des Sauerstoffes, die durch vorliegende Versuche in der ersten Zeit nach der Resektion konstatiert wurde, muß also in einer anderen Art von Vorgängen gesucht werden, die so bedeutende oxydierende Prozesse auslösen, daß dadurch die mit der Verminderung der Funktionsfähigkeit des Rückenmarkes zweifellos einhergehende Verminderung in der Sauerstoffaufnahme desselben verdeckt wird. Es scheint mir, daß dieses Vorgänge chemischer Natur sein könnten, die sich während der Degeneration der Fasern abspielen, und wohl auch, aber in geringstem Maße, diejenigen regressiven Prozesse betreffen, die jene Zellen befallen, welche mit den zerstörten Fasern zusammenhängen, welche Prozesse, wie angegeben, durch den Zerfall und die Auflösung der Chromatinschollen gekennzeichnet werden. Es ist aber nicht erwiesen, daß diese Vorgänge von einer Aufnahme von Sauerstoff begleitet werden, ebenso wenig als man behaupten kann, daß die allmähliche Zerstörung der Achsenzylinder oxydative Prozesse auslösen; über beide Punkte sind die heutigen Kenntnisse zu unsicher.

Weit besser sind einige der Vorgänge bekannt, die sich in den Markscheiden nach Unterbrechung der Fasern abspielen. Aus den Untersuchungen von Halliburton[1]) geht hervor, daß in den Myelinfasern führenden Nerven nach Durchschnitt derselben eine Verminderung der festen Bestandteile gegenüber dem Gehalt an Wasser eintritt: von einem Mittel von 66% H_2O

[1]) Halliburton, Chemical side of nervous activity. London 1901. — Matt und Halliburton, The Chemistry of nerve degeneration. Philosoph. Trans. of the royal society 1901.

beim normalen Nerv stieg dieser Gehalt während der Wallerschen Degenerationsvorgänge, die auf den Durchschnitt folgen, auf ein Mittel von 74%.

Gleichzeitig macht sich eine rasche und progressive Verminderung im Phosphorgehalt bemerkbar, die bis zum vollständigen Verschwinden des P bei vorgeschrittener Degeneration geht.

Endlich tritt sowohl bei gewissen organischen Krankheiten des Nervensystems (Beriberi — progressive Paralyse) als auch nach Durchschnitt größerer Nervenfaserstränge im Blute eine ziemliche Menge von Cholin auf, das mit den biologischen Methoden nachgewiesen werden konnte. Diese Beobachtungen von Halliburton beweisen, daß die Degeneration der Nervenfasern mit einer Veränderung der chemischen Zusammensetzung des Myelins einhergeht, welches, bei vollständiger Degeneration, des P gänzlich verlustig gegangen ist, also auch seine hauptsächlichsten Bestandteile, das Protagon und das Lecithin (beides P-haltige Substanzen), eingebüßt hat. Erstere Substanz, das Protagon, über dessen Zusammensetzung viele Meinungsverschiedenheiten geherrscht haben, wäre nach den neueren Untersuchungen als eine chemisch definierte Substanz anzusehen.[1])

Was die Spaltungsprodukte anlangt, die aus demselben hervorgehen, so zeigen die Untersuchungen von Kossel und Freitag[2]), daß, in vitro mit verdünnten mineralischen Säuren behandelt, das Protagon unter anderem reduzierende Kohlenhydrate gibt. Mit Salpetersäure gibt es hohe Fettsäuren, mit Barytwasser Cerebrin, Kerasin (Homocerebrin), Encephalin und auch die Spaltungsprodukte des Lecithins, das heißt Fettsäuren, Glycerinphosphorsäure und Cholin.

Man kann nicht bestimmt sagen, ob die Spaltung des Protagons im Organismus sich als ein oxydativer Prozeß abspiele; aber nach den neueren Untersuchungen kann man als bewiesen ansehen, daß das Lecithin, das einen der Hauptbestandteile der Myelinscheide darstellt, sich neben der Hydrolyse

[1]) Wilson and Cramer, Quarterly Journ. of experim. Physiol. 1, 1908 und 2, 1909. — Rosenheim und Table, Journ. of Physiol. 38, 1908. — W. Gies, Journ. of biolog. Chem. 3, 1907.

[2]) Kossel und Freitag, Zeitschr. f. physiol. Chem. 17.

auch durch oxydative Prozesse[1]) spalte, und zwar wegen der Gegenwart nicht gesättigter Fettsäuren, die an seiner Zusammensetzung teilnehmen.

Aus den hier wiedergegebenen Versuchen geht hervor:

1. Daß nach Durchschneidung der myelinführenden Nervenfasern, aus denen in der Hauptmasse die Stränge des Rückenmarkes bestehen, in den ersten Tagen nach der Resektion die oxydativen Prozesse energischer vor sich gehen.

2. Daß der Respirationsquotient des Rückenmarkgewebes, der unter normalen Verhältnissen niedriger ist als die Einheit, dieses Verhalten auch nach der Resektion nicht verändert.

3. Daß der Mehrverbrauch an O_2 während der degenerativen Vorgänge, die auf die Resektion der myelinführenden Fasern folgen, von den oxydativen Prozessen abhängen muß, die sich hauptsächlich während der Spaltung der chemischen Bestandteile der Markscheiden abspielen.

[1]) Cousin, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 1903. — Henriques und Hansen, Skand. Arch. f. Physiol. 14. — Abderhalden, Jahrb. d. physiol. Chem. 1909.

Fortgesetzte Untersuchungen über die physiologische Permeabilität der Zellen. III.[1])

Die Permeabilität der Speicheldrüsenzelle für Zucker. Zugleich ein Beitrag zur Theorie der Speicheldrüsensekretion.

Von

Leon Asher und Theodor Karaúlow.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 27. Februar 1910.)

In einer vorausgegangenen Untersuchung über die physiologische Permeabilität der Zellen hatte der eine von uns (Asher, diese Zeitschr. 14, 1, 1908) die für die allgemeine Sekretionslehre wichtige Frage diskutiert, weshalb der im Blute frei gelöste Zucker nicht in die Sekrete übertritt. Insbesondere war zum Studium dieser Frage der Spezialfall der Speicheldrüse herangezogen worden, weil bei dieser nicht allein unter physiologischen, sondern auch, im Gegensatz z. B. zur Niere, unter erheblich von der Norm abweichenden Bedingungen kein Übertritt von Zucker aus dem Blut in den Speichel stattfand. So wird im Diabetes Zucker im Speichel vermißt, und Weyert sowie Asher zeigten, daß selbst nach intravenöser Injektion von viel Zucker und bei intensiver Sekretion kein Zucker durch den Speichel ausgeschieden wurde. Diese Tatsache könnte durch die Annahme erklärt werden, daß die Speicheldrüsenzelle für Zucker nicht permeabel sei, etwa so wie die Traubeschen

[1]) I, diese Zeitschr. 14, 1; II, diese Zeitschr. 16, 313.

halbdurchlässigen Membranen oder etwa deshalb, weil bei dieser spezifischen Zelle der Aufbau der hypothetischen lipoiddurchtränkten Plasmahaut besonders ungünstig für die Aufnahme von Zucker sei. Bekanntlich ist für analoge Fälle, wie derjenige der Speicheldrüse, namentlich die letztere Hypothese von einigen Autoren gern angewandt worden.

Aber von einer Impermeabilität der Speicheldrüsenzelle für Zucker im Sinne des Physikochemikers zu sprechen, hat seine Bedenken. Denn wenn man die Annahme macht, daß kein Zucker aus dem Blute in die Speicheldrüsenzelle tritt, verzichtet man auf die Möglichkeit, die für den Sekretionsakt die Energie liefernden Verbrennungen auf Kosten des Zuckers geschehen zu lassen. Nun ist aber, weil gar kein Anhaltspunkt für wesentliche Verbrennung von Eiweiß oder Fett in der Speicheldrüsenzelle unter normalen Bedingungen vorliegt, der Zucker derjenige Stoff, auf den man rekurrieren, und dessen Eintreten in die Speicheldrüsenzelle man daher postulieren muß. Es sei denn, daß man die Hypothese macht, daß aus unbekannten, nicht zuckerartigen Stoffen ein Zucker liefernder Stoff in der Drüsenzelle gebildet wird.

Es ist nun das tatsächliche Verhalten des Zuckers bei der Tätigkeit der Speicheldrüse noch nicht experimentell untersucht worden, und ehe irgendwelche Erörterung über die Permeabilitätsverhältnisse von Zucker durch die Zellen der Speicheldrüse nutzbringend angestellt werden kann, muß dies vorerst geschehen. Es ist klar, daß diese Untersuchung gleichzeitig für einen Einblick in die Vorgänge, die bei der Drüsensekretion sich abspielen, von Wichtigkeit ist. Die Ergebnisse der Untersuchung haben unsere Hoffnung, einen Schritt vorwärts in der Erkenntnis des Mechanismus der Drüsensekretion zu kommen, nicht enttäuscht.

Die zu lösende Aufgabe bestand darin, den Zuckergehalt des in die Drüse einströmenden und des aus der Drüse ausfließenden Blutes zu bestimmen und zu ermitteln, ob bei Tätigkeit der Drüse eine Änderung im Zuckergehalt des Blutes einträte. Die Speicheldrüse ist aus mehrfachen Gründen ein günstiges Organ für die Beantwortung der prinzipiell wichtigen Frage. Erstens läßt sich das aus der Speicheldrüse fließende Blut streng isoliert von anderen Blutsorten auffangen. Zweitens

ist diese Isolation weder mit Störungen des Kreislaufes und der Funktion des untersuchten Organes verbunden, noch werden die Verhältnisse des Gesamtorganismus derartig in Mitleidenschaft gezogen, daß der so überaus labile Kohlenhydratstoffwechsel Schwankungen unterläge, die etwaige Veränderungen desselben im untersuchten Organ verdecken könnten. Drittens ist die Speicheldrüse leicht Zuständen abgestufter Tätigkeitsstärke zu unterwerfen. Viertens besitzen wir aus den Untersuchungen von Barcroft und denjenigen von Asher Erfahrungen an dem vorliegenden Organe über den Stoffaustausch zwischen Blut und Geweben, die zur Beurteilung analoger Vorgänge herangezogen werden können. Die einzige Schwierigkeit, die in Kauf genommen werden muß, ist die, daß man mit verhältnismäßig kleinen Blutmengen auszukommen hat. Denn ein größerer Blutentzug ändert verschiedenes an der Zusammensetzung des Blutes in einer Weise, die das Übersehen der Verhältnisse und ihre rechnerische Durcharbeitung erschwert. Die Schärfe der Zuckeranalyse im Blute ist aber so weit gediehen, daß schon verhältnismäßig kleine Mengen zu einer genauen Bestimmung hinreichen.

Methode. Zur Untersuchung dienten ausschließlich Hunde, die mit Morphium und Äther narkotisiert wurden. Die Chorda tympani wurde durchschnitten und auf Ludwigsche Elektroden gelegt. Zur Reizung diente ein geaichtes Kronecker-Induktorium. In den Ductus Whartonianus kam eine Glaskanüle, und der bei Chordareizung abfließende Speichel wurde in einem graduierten Maßzylinder aufgefangen. Arterielles Blut wurde entweder aus der Femoralis oder aus der Carotis derjenigen Seite, die nicht zur Präparation der Speicheldrüse diente, entnommen. Die Gewinnung des aus der Speicheldrüse ausfließenden venösen Blutes geschah in der bekannten Weise, wie früher in der ersten Arbeit von Asher über die physiologische Permeabilität der Zellen näher beschrieben wurde. Es kommt außerordentlich viel darauf an, daß peinlich jeder auch noch so kleine venöse Zufluß außer demjenigen aus der Speicheldrüse ausgeschaltet wird, damit keine Verwischung des Resultates eintritt. Da man bestrebt sein muß die Drüse, um ihren Kreislauf und ihr Absonderungsvermögen nicht unnötig zu schädigen, nicht allzuviel zu isolieren, ist das Auffinden kleinster Venenzweige oft mit Schwierigkeiten verknüpft. Zwei Anomalien fanden wir gelegentlich störend; die erste bestand darin, daß von der kleinen, in die Konvexität der Drüse sich hineinsenkenden Vene ein dicht der Drüse zunächst angelagertes Venenzweiglein abging, was sich später nach der Muskulatur an der Halswirbelsäule begab; die andere bestand darin, daß von der genannten Drüsenvene ein Zweig rückwärts in die Parotisdrüse abbog. Beide Anomalien sind

schwer während der Präparation zu sehen. In einigen Fällen wurde der Sympathicus durchschnitten, um größeren Blutausfluß bei Chordareizung und genügende Blutmenge aus der ruhenden, ungereizten Drüse zu erhalten.

Das ausfließende Blut wurde in kleinen, ca. 30 ccm fassenden Erlenmeyer-Kölbchen mit ganz kurzem, aber weitem Hals aufgefangen. Die Kölbchen waren vorher mit 5 ccm Oxalatlösung beschickt und gewogen. Nach Auffangen des ausgeflossenen Blutes wurden sie wieder gewogen und so dessen Menge bestimmt. Die besondere Einrichtung der Kölbchen hatte den Zweck, die ausfließenden Blutstropfen rasch in die gerinnungshemmende Flüssigkeit gelangen zu lassen und auch die minimalste Gerinnung, die sich beim Fließen längs eines schmalen Kolbenhalses ereignen kann, zu vermeiden.

Das Blut wurde nach der Methode von Schenck enteiweißt; der Zucker wurde mit Hilfe der gravimetrischen Methode der Zuckerbestimmung nach E. Pflüger ausgewertet. Wir befolgten die Vorschriften, wie sie sich in Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden vorfinden. Da wir es mit kleinen Blutmengen zu tun hatten, schien es uns vorteilhaft, die für viele fast gleichzeitig zu machende Analysen etwas umständliche, dafür aber sehr genaue Pflügersche Methode anzuwenden.

Ehe die Resultate der Versuche mitgeteilt werden, sei kurz erörtert, welche Ergebnisse auf Grund des augenblicklichen Standes unserer Kenntnisse als wahrscheinliche in das Auge gefaßt werden konnten. Die Annahme, die wir selbst machten, war die, daß die Speicheldrüse bei ihrer Tätigkeit Zucker verbrauche. Vorausgesetzt, daß diese Annahme richtig sei, so konnte erwartet werden, daß in dem aus der tätigen (absondernden) Drüse abfließenden venösen Blute ein geringerer Zuckergehalt gefunden würde als in dem einströmenden arteriellen Blute. Die Verhältnisse konnten also ähnlich liegen, wie man für den Muskel anzunehmen gewohnt ist. Das Gelingen dieses Nachweises würde davon abhängen, daß die Änderungen im Zuckergehalt von einer Größenordnung sind, daß sie analytisch nachweisbar sind und nicht dadurch verdeckt werden, daß die Geschwindigkeit des Blutstroms in der Speicheldrüse hierfür zu groß ist. Unsere Annahme von einer Beteiligung des Zuckers an den aktiven Prozessen in der absondernden Speicheldrüse hat sich als zutreffend erwiesen, aber die Beweise hierfür sowie für die Permeabilität der Speicheldrüsenzelle für Zucker gestalteten sich anders als wir erwarteten.

Versuch 1.

Hund, Körpergewicht 8.75 kg. Morphium-Äthernarkose.

Nr. der Blutprobe	Blutmenge g	Zeit der venösen Blutentnahme	Zuckergehalt im Blut venös %	Zuckergehalt im Blut arteriell %	Speichelmenge ccm	Bemerkungen
1 gleichzeitig	19,03		0,1203			Venöses Blut aus der Vena jugularis
2 gleichzeitig	19,79			0,1526		Arterielles aus d. Carotis
3 gleichzeitig	10,57	2′	0,2043		4	Venöses Blut aus der Speicheldrüsenvene
4 gleichzeitig	12,57			0,1336		
5 gleichzeitig	8,26	3′	0,3747		3	Reiz verstärkt
6 gleichzeitig	12,17			0,1575	1,5	Reiz sehr verstärkt
7 gleichzeitig	10,42	3′ 30″	0,1238			
8 gleichzeitig	19,8			0,1591		

Im Versuch 1 wurde zunächst streng gleichzeitig aus der Carotis und der Vena jugularis Blut entnommen. Dies geschah aus dem Grunde, um aus einem größeren Gefäßbezirke Blut zum Vergleich zu gewinnen. Das Resultat ist, daß im arteriellen Blut der Zuckergehalt um einen geringen, aber merklichen Grad größer ist als im venösen. Das Gebiet, aus dem das venöse Blut stammte, kann als ein ruhendes Gewebsgebiet angesehen werden.

Im starken Gegensatz hierzu steht der auffallende Unterschied im Zuckergehalt des arteriellen und venösen Blutes, wenn letzteres ausschließlich aus dem stark absondernden Drüsenorgane stammt, wie Proben 3, 4 und 5, 6 lehren. Da die jeweiligen Vergleichsproben zu genau der gleichen Zeit entnommen wurden, kann der Unterschied nicht auf zeitlichen Schwankungen des Zuckergehalts, wie sie bekanntlich infolge mannigfacher Versuchseingriffe vorkommen, beruhen. Daß diese zeitlichen Schwankungen in dieser Versuchsreihe keine sehr erheblichen und jedenfalls gar nicht im Vergleich zu den vorliegenden Unterschieden in Betracht kommende sind, lehrt der Vergleich der vier für den Zuckergehalt des arteriellen Blutes erhaltenen Zahlen. Drei davon dürfen als konstante Werte bezeichnet werden, und einer unterscheidet sich von den drei anderen um einen sehr viel kleineren Wert als denjenigen zwischen Probe 3 und 4 bzw. 5 und 6. Erst der Zuckergehalt der Proben 7 und 8 zeigt wieder den anfangs beobachteten Unterschied zugunsten des arteriellen Blutes. Auch das ist nicht zufällig, sondern beruht vielmehr in einem wichtigen Unterschied der Versuchsbedingungen. Denn am Ende des Versuches mußte der Reiz der Chorda tympani, um über-

haupt Speichel zu erhalten, außerordentlich verstärkt werden, und die Erschöpfung war so weit vorgeschritten, daß trotz der großen Reizstärke nur eine geringe Speichelabsonderung erzielt wurde.

Das Resultat dieses Versuches ist also, daß während der Tätigkeit der nicht erschöpften Drüse das dieses Organ durchströmende Blut auf seinem Wege einen Zuwachs an Zucker empfängt. Es fragt sich, ob dieser Zuwachs ein scheinbarer ist. Hieran könnte gedacht werden, weil es Stoffe im venösen, aus der tätigen Speicheldrüse abfließenden Blut gibt, die tatsächlich nur scheinbar vermehrt sind. Denn Asher zeigte (diese Zeitschr. 14, 1), daß der Eiweißgehalt dieses venösen Blutserums größer war als derjenige des arteriellen. Dieser Unterschied beruhte darauf, daß in der tätigen Drüse innerhalb sehr kurzer Zeit so viel Wasser oder eiweißarme Flüssigkeit durch die Capillarwand hindurchtrat, daß der prozentische Gehalt des Blutserums wuchs. Insofern ist der Zuwachs nur ein scheinbarer. Die Größe dieses Zuwachses fand Asher im Betrage von 2%. Wenn wir die für unsere Deutung ungünstige — und unserer Meinung nach ganz unzutreffende — Annahme machen, daß die Wand der Capillare in der Speicheldrüse die gleiche geringe Permeabilität für Traubenzucker besäße wie für Eiweiß, und wenn wir die Ashersche Zahl zur Korrektur der Werte der Blutproben 3 und 5 benutzen, erhalten wir die korrigierten Zahlen 0,2002% und 0,3662%. Es bleibt selbst unter diesen künstlich ungünstig genommenen Bedingungen die Tatsache zu Recht bestehen, daß in der tätigen Speicheldrüse das Blut sich am Zucker bereichert.

Der Zucker wurde im Gesamtblute und nicht im Plasma bestimmt. Auch hierauf könnte der Unterschied zurückgeführt werden, da ja das Plasma wasserärmer wird. Ehemals, vor den Arbeiten von Rona und Michaelis über den Zuckergehalt der Blutkörperchen, spielte diese Tatsache eine Rolle bei dem Studium des Verhaltens von Zucker in gewissen biologischen Vorgängen, z. B. in der bekannten Diskussion zwischen Heidenhain und Cohnstein. In unseren Versuchen liegt der Fall jedoch anders, gerade umgekehrt. Jetzt ist diese Angelegenheit aber gegenstandslos geworden, und erst jüngst hat Hollinger (diese Zeitschr. 17, 1) in Lüthjes Laboratorium gezeigt, daß theoretisch und praktisch es am richtigsten ist, im Gesamtblut den

Zuckergehalt zu bestimmen. Demnach kann auch von dem soeben erörterten Gesichtspunkte aus behauptet werden, daß der gefundene Unterschied im Zuckergehalt der beiden Blutsorten ein absoluter und nicht bloß ein prozentischer ist.

Der nächste Versuch bringt nicht bloß eine Bestätigung der nachgewiesenen neuen Tatsache, sondern auch eine Erweiterung dahin, daß auch venöses Blut, das aus der nicht gereizten Drüse abfloß, zum Vergleich mit untersucht wurde. Es war, um genügend Blut zu erhalten, vorher der Sympathicus durchschnitten worden.

Versuch 2.

Mittelgroßer Hund. Morphium-Äthernarkose. Sympathicus durchschnitten.

Nr. der Blutprobe	Blutmenge g	Zeit der venösen Blutentnahme	Zuckergehalt im venösen Blut mit Reizung %	Zuckergehalt im venösen Blut ohne Reizung %	Zuckergehalt im arteriellen Blut %	Speichelmenge ccm	Bemerkungen
1 gleichzeitig	16,7	1′ 30″	0,1928			2,5	Art. Blut aus Art. femoralis
2	26,27				0,0757		
3 gleichzeitig	16,6	1′ 30″	0,1963				
4	19,75				0,0967	3,0	
5	12,58	2′ 30″		0,0624			
6 gleichzeitig	18,31	1′ 45″	0,1109			2,8	Reiz verstärkt
7	14,95				0,0856		
8	16,25	1′ 45″	0,0659			sehr wenig	sehr starker Reiz
9	15,02	3′ 0″		0,0577			

Dies Ergebnis ist hinsichtlich der gleichzeitig entnommenen Blutproben 1 und 2 bzw. 3 und 4 ein sehr klares, indem der Zuckergehalt des venösen Blutes, das der absondernden Drüse entströmt, sehr viel größer ist als derjenige des arteriellen. Genau so, wie im voraufgehenden Versuch, ist auch deshalb der Beweis ein so schlagender, weil die Werte für den Zuckergehalt des venösen Blutes ungemein hohe sind. Auch sind die beiden Werte untereinander fast gleich. Im Verlaufe des Versuches nimmt trotz zunehmender Reizstärke die Absonderung mehr und mehr ab. Dieser Verminderung der Tätigkeit der Speicheldrüse entspricht auch, daß in Probe 6 im venösen Blute der absondernden Drüse der Zuwachs an Zucker nur noch ein geringer ist. Schließlich ist in Probe 8 der Zuckergehalt geringer geworden als im arteriellen Blute.

Ganz anders stellen sich die Verhältnisse im venösen Blute, das aus der ruhenden Drüse ausfloß. Wie man sieht, erhielten wir dadurch, daß wir den N. sympathicus der betreffenden Drüse durchschnitten hatten, in relativ kurzer Zeit genügend Blut zu einer zuverlässigen Analyse. In diesem Blute nun war der Zuckergehalt nicht allein kleiner als im venösen bei der Tätigkeit, sondern auch kleiner als im arteriellen Blute. Zusammengehalten mit dem im vorigen Versuche erhobenen Befunde, daß das Blut aus der Jugularis keinen höheren, sondern etwas geringeren Zuckergehalt als das arterielle Blut besitzt, geht hieraus mit Sicherheit hervor, daß bei den von uns eingehaltenen Versuchsbedingungen nicht etwa an und für sich dem venösen Blute höhere Zuckerwerte zukommen.

Wir finden also den eigentümlichen Gegensatz, daß venöses Blut aus der tätigen Drüse einen größeren, dasjenige aus der ruhenden einen geringeren Zuckergehalt hat als das arterielle Blut. Ehe diese Tatsache im Zusammenhange besprochen wird, sei noch ein dritter Versuch berichtet.

Versuch 3.

Hund. Morphium-Äthernarkose. Sympathicus durchschnitten.

Nr. der Blutprobe	Blutmenge g	Ausflußzeit	Zuckergehalt im venösen Blut mit Reizung %	Zuckergehalt im venösen Blut ohne Reizung %	Zuckergehalt im arteriellen Blut %	Bemerkungen
1	24,26	1′		0,0872		Sympathicus soeben durchschnitten
2	22,1	1′	0,1602			4 ccm Speichel
3 gleichzeitig	27,38				0,1109	
4 gleichzeitig	20,75	1′	0,1180			geringe Speichelmenge
5 gleichzeitig	24,60				0,1118	
6 gleichzeitig	20,96	1′ 40″	0,1278			2 ccm Speichel. Reiz verstärkt
7	19,35	2′ 25″		0,1023		
8	18,38	1′ 30″	0,0926			Speichelmenge sehr geringfügig
9	17,69	1′ 30″	0,0991			
10	19,52	2′ 15″		0,0908		

Wiederum zeigt sich an der frischen Drüse, daß auf der Höhe der Absonderung der Zuckergehalt des venösen Blutes absolut ein ungewöhnlich hoher ist und ganz erheblich größer als in dem 3 Minuten vorher entnommenen venösen Blute des ruhenden Organes. In diesem Versuche versagte darauf die Drüse bald, jedoch ist immer noch in den Vergleichsproben 5 und 6 im venösen Blut aus der absondernden Drüse die Zuckermenge größer als im gleichzeitig gewonnenen arteriellen Blute. Der Ver-

such dient aber vor allem auch dazu, zu zeigen, daß zu ganz verschiedenen Zeiten aus der ruhenden Drüse aufgefangenes Venenblut stets einen geringeren Zuckergehalt hat als das venöse Blut aus dem tätigen Organ und als das arterielle Blut, welch letzteres in zwei verschiedenen Proben (3 und 5) recht gut übereinstimmende Werte ergeben hat.

Unzweifelhaft ist durch die vorstehenden Versuche der Nachweis geliefert, daß in der stark absondernden Drüse das Blut eine Zunahme seines Zuckergehaltes erfährt. Dieser Zucker muß aus den umgebenden Geweben stammen. Dieser Nachweis ist in mehreren Beziehungen interessant. Erstens lernen wir die Tatsache kennen, daß, wenn in der Drüsenzelle infolge der Reizung der Chorda tympani der Sekretionsvorgang eingeleitet worden ist, Zucker in der Drüsenzelle in eine Form übergeführt wird, daß er aus der Zelle austreten kann. Zweitens ist die eingangs aufgeworfene Frage, ob die Speicheldrüsenzelle für Zucker permeabel sei, bejahend beantwortet, wenn auch zunächst eine Permeabilität in der umgekehrten Richtung als von uns erwartet worden war, gefunden wurde. Beide Tatsachen eröffnen einige Ausblicke, die der Besprechung wert sind.

Man wird sich zunächst nach der Quelle des Zuckers zu fragen haben. Offenbar ist er in der ruhenden Drüsenzelle in einer Form vorhanden, in der er nicht diffusibel ist, und er wird es erst dadurch, daß er aus einer Vorstufe abgespalten wird. Man könnte in erster Linie an das Mucin der Speicheldrüse denken, einen Körper, von dem nachgewiesen worden ist, daß er eine Kohlenhydratgruppe enthält. Daß Mucin selbst übergeht, dagegen spricht, daß in der Regel die Sekretionsprodukte einer Zelle unter normalen Bedingungen nicht in das Blut übergehen (Fermente machen allerdings eine Ausnahme) und daß die Kürze der Zeit, in der sich das Blut mit Zucker anreichert, für eine so überaus rasch diffundierende Substanz, wie Zucker selbst ist, spricht. Man könnte ferner an Glykogen denken. Über den Glykogengehalt von Speicheldrüsen höherer Tiere liegen, soweit uns bekannt, keine quantitativen Angaben vor. Hingegen hat Barfurth bei den Wirbellosen nicht allein Glykogen nachgewiesen, sondern auch durch histologische Untersuchungen enge Beziehungen desselben zum Sekretionsakt aufgedeckt. Es ist naheliegend, für die Speicheldrüsen der Wirbeltiere analoge Verhältnisse für möglich zu halten. Schließlich

könnte auch an einen Eiweißkörper gedacht werden, der in seinem Molekül einen leicht abspaltbaren Zucker enthielt. Es wird Sache eigener Untersuchung sein, festzustellen, welches in Wirklichkeit die Quelle dieses Zuckers ist. Unbeschadet aber des Umstandes, daß der nähere stoffliche Ursprung des Zuckers noch unbekannt ist, lassen sich folgende für die Theorie des Sekretionsvorganges wichtige Folgerungen ziehen.

Das Freiwerden von Zucker hat offenbar den Zweck, Material für die zur Drüsensekretion erforderliche Energie wenigstens teilweise zu liefern. Der Übergang von Zucker in das Blut scheint uns nur darauf zu beruhen, daß bei der großen Diffusibilität des Zuckers ein Teil des vermutlich im Überschuß gebildeten Zuckers aus der Zelle in das Blut diffundieren kann. Es ist bei dieser Sachlage sehr interessant, daß dem Zucker wohl der Weg aus der Zelle in das Blut, aber nicht aus der Zelle in das Sekret offen steht. Es beruht also das Fehlen des Zuckers im Sekret nicht etwa darauf, daß die Drüsenzelle für Zucker impermeabel sei — sie ist für Zucker permeabel —, sondern darauf, daß, obwohl der Zucker in transportfähiger Form in der Zelle sein kann, er wegen Mangel eines Scheidevermögens für Zucker nicht in das Sekret gelangt. Auf diesen Unterschied zwischen Permeabilität und Scheidevermögen hat der eine von uns schon wiederholt hingewiesen.

Außer als Energiequelle kann der durch den Erregungsprozeß freigemachte Zucker noch in einer anderen Beziehung in die Mechanik des Sekretionsvorganges eingreifen. Obwohl der Zucker zum Teil sehr rasch verbrennt, wie der überaus lebhafte von Barcroft nachgewiesene Respirationsprozeß in der Speicheldrüse lehrt, zum Teil in das Blut hinüberdiffundiert, ist doch im Moment seines ersten Auftretens Zeit genug vorhanden, daß er osmotisch wirkt. Um den Austritt von Wasser aus der Gewebsflüssigkeit in die Zellen zu erklären, hat man mannigfache Stoffe verantwortlich gemacht. Sehr oft spricht man allgemein von Abbauprodukten des Eiweißes, was wohl für manche, sicher nicht für alle Fälle zutreffend ist. In Ludwigs Laboratorium hat Weyert die Ansicht aufgestellt, daß in der Speicheldrüsenzelle infolge des Erregungsprozesses eine Säure entstehe, die stark diosmotisch wirke. Durch die vorstehenden Versuche ist gezeigt worden,

daß der Zucker als diosmotisch wirkender Stoff mit in Betracht zu ziehen ist.

Wir haben gesehen, daß, nach voraufgegangener Tätigkeit, in dem aus der ruhenden Drüse fließenden Blute eine Abnahme des Zuckers bemerkbar ist. Da schwerlich im Ruhezustande im Blut eine besondere Zuckerzerstörung stattfinden wird, darf angenommen werden, daß Zucker aus dem Blute in die Zellen übertritt. Die Bedeutung dieses Überganges von Zucker sehen wir darin, daß dadurch die tätig gewesene, ruhende Zelle ihren Bestand an Zucker ergänzt, um ihn wieder in jenen Stoff einzufügen, von dem er bei der Tätigkeit abgespalten wird.

Solange die Drüsenzelle frisch und nicht durch zu viel Arbeit erschöpft ist, besitzt sie genug gebundenen Zucker, um ihn für die dem Sekretionsakte zugrunde liegenden Prozesse frei zu machen. Die normale, frische Zelle hat also eine weitgehende Selbständigkeit, sie deckt primär nicht, wie vielfach, auch von uns ursprünglich, angenommen wurde, ihren Bedarf während der Tätigkeit aus dem Blute, sondern erst sekundär im Ruhezustand. Es wird sich verlohnen, zu prüfen, ob nicht hier ein allgemeines Prinzip vorliegt, das für andere Drüsenzellen und noch allgemeiner gilt, indem jeder eigentliche Tätigkeitsakt infolge physiologischer Erregung an zelleigenem Material sich abspielt.

In unseren Versuchen tritt die Erschöpfung an zelleigenem Material sehr bald ein. Dies rührt daher, daß die von uns gewählte Morphium-Äthernarkose vor Beginn des eigentlichen Versuches zu einer profusen Speichelabsonderung führt.

Zur Frage der Permeabilität des Zuckers durch die Speicheldrüsenzelle ist noch zu bemerken, daß diese Permeabilität nach unseren Ausführungen für zwei Richtungen besteht, in die Zelle hinein und aus der Zelle heraus. Mit Rücksicht auf die Permeabilitätsfrage liegt hier ein ganz klarer Fall vor, wo man erkennen kann, daß ein lipoidunlöslicher Stoff rasch diffundiert und daß der Ort, an dem der Durchtritt vor sich geht, die Zellwand selbst ist. Da Zucker ein lipoidunlösliches Krystalloid ist, haben sowohl Overton wie Höber daran gedacht, daß er zum Beispiel im Darm nicht durch die Zelle, sondern intercellulär durch die Kittsubstanz diffundiere. Auch bei den Capillarwänden soll der Durchtritt ein ähnlicher sein. Diese Hypothese ist hinsichtlich der Speicheldrüsenzelle nicht anwendbar.

Denn, damit Zucker aus der Zelle in die Capillaren und aus den Capillaren in die Zelle gelange, muß derselbe notwendigerweise an irgend einer Stelle die Zellwand selbst passieren. Daß es sich so in der Leber verhalten muß, ist selbstverständlich auch wohl nie bezweifelt worden. Auch für den Muskel gilt das gleiche. Mit unserem Nachweis, daß die Speicheldrüsenzelle permeabel für Zucker ist (die erledigte Streitfrage, daß der Blutzucker frei gelöster Zucker ist, diskutieren wir hier nicht), sind die Fälle vermehrt, wo Permeabilität des Protoplasmas selbst vorliegt. Es scheint uns, daß ganz allgemein die Hypothese von dem Durchwandern physiologisch wichtiger Stoffe durch die Kittlinien entbehrlich ist.

In einer bemerkenswerten Mitteilung „Über den Einfluß der Muskeltätigkeit auf den Zuckergehalt des Blutes" zeigte Reach (Reach, Centralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffw. 1909, Nr. 7), daß während kurzer Muskeltätigkeit beim Übergang von Ruhe zur Arbeit die Zuckermenge des Blutes zunimmt, beim Übergang von Arbeit zur Ruhe abnimmt. Das Tatsächliche des Ergebnisses ist sehr ähnlich wie das unsrige. Da ganz andere Versuchsbedingungen an anderem Orte vorliegen, ist die Erklärung des Autors berechtigterweise eine ganz andere, und er denkt an einen Eintritt von Zucker aus den Depots in das Blut infolge einer Hormoneinwirkung. Es wäre aber nicht uninteressant zu untersuchen, ob nicht teilweise eine analoge Erscheinung vorliegt wie in unseren Versuchen, nämlich ein Eintritt von Zucker aus dem tätigen Organ in das Blut, solange die Arbeit keine ermüdende ist; um so mehr, als ein Widerspruch besteht zwischen den Ergebnissen von Chauveau und Kaufmann, die bei Muskeltätigkeit Zucker verlust im venösen Blut fanden, und denen von Pavy und auch Lepine und Boulud, die den Zuckerverlust vermißten.

Zusammengefaßt sind die Ergebnisse dieser Arbeit folgende:

1. Der Zuckergehalt des venösen Blutes der Speicheldrüse ist während der Absonderung größer als derjenige des arteriellen Blutes. Der Unterschied ist um so größer, je intensiver die Tätigkeit und je frischer die Drüse ist.

2. In der Ruhepause nach Tätigkeit ist umgekehrt der Zuckergehalt des venösen Blutes ein wenig kleiner als derjenige des arteriellen.

3. Wenn die Speicheldrüse infolge eines Reizes aus dem Zustand der Ruhe in denjenigen der Tätigkeit übergeht, wird aus einer noch nicht festgestellten Vorstufe Zucker frei, der teils zur Energielieferung für den Sekretionsakt dient, teils wegen seiner großen Permeabilität in das Blut diffundiert. In der Ruhe nimmt die Drüsenzelle wieder zum Ersatz Zucker auf.

4. Die Wand der Speicheldrüsenzelle ist für Zucker permeabel; in das Sekret geht aber kein Zucker über, weil in der Richtung nach den Sekretwegen der Drüsenzelle das Scheidevermögen für Zucker fehlt.

5. Für die Theorie der Drüsensekretion, speziell der Speicheldrüsensekretion, ist die Erkenntnis erhalten worden, daß der Zucker sich erstens an den chemischen Prozessen dieses Sekretionsaktes beteiligt und daß zweitens der Zucker auch eine osmotische Wirkung entfalten kann. Es wurde ferner darauf aufmerksam gemacht, daß dem Sekretionsvorgang chemische Prozesse zugrunde liegen, die primär auf Kosten von Stoffen, die dem Verband der Zelle angehören, ablaufen.

Über die fettspaltenden und oxydierenden Fermente der Schilddrüse und den Einfluß letzterer auf die lipolytischen und oxydierenden Prozesse im Blute.

Von

A. Juschtschenko.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kais. Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 27. Februar 1910.)

Meine im Laufe der letzten 2 Jahre ausgeführten Untersuchungen über die Schilddrüse zerfallen in zwei Teile. In dem ersten sind die Beobachtungen über das fettspaltende Schilddrüsenferment (Lipase) und die Veränderungen der lipolytischen Blutfunktionen bei Tieren mit entfernter Drüse sowie bei Verabfolgung der Präparate derselben zusammengefaßt. Der zweite Teil enthält die Beobachtungen über die oxydierenden Fermente (Katalase und Peroxydase) bei Hypo- und Hyperthyreoidismus.

Alle Versuche wurden möglichst steril ausgeführt; als antiseptische Mittel wurden Chloroform und Toluol verwandt. Von den vielen Lipasebestimmungen verschiedener Organe wollen wir hier nur die wenigsten anführen.

I. Über die fettspaltenden Enzyme der Schilddrüse.

Tabelle I.

Die am 5. V. 1908 erhaltenen, vollständig frischen Rinderorgane wurden in einem sterilen Gefäß aufbewahrt (auf Eis), am 6. V. gereinigt

und in der Hackmaschine zerkleinert; das durch Zentrifugieren aus dem Blute gewonnene Serum war schwach gefärbt.

Name und Menge des Organs g	6. V. vor dem Versuch ccm	Nach 45 Std. ccm	Säuregrad-steigerung ccm	Fettsäuregrad-steigerung ccm
0,5 Schilddr. + phys. Lös.	0,05[1])	0,15	0,5	
0,5 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,3	1,25	+ 0,75
0,5 „ gekocht[2]) + 4 ccm Monobutyr.	0,06[3])	0,06	0	
0,5 „ + 1 ccm Olivenöl	0,05	0,15	0,5	0
2,0 „ + phys. Lös.	0,06	0,35	1,45	
2,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,06	0,8	3,7	+ 2,25
2,0 „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,1	0,1	0	
2,0 „ + 8 ccm Monobutyr.	0,06	0,95	4,45	+ 3,0
2,0 „ + 1 „ Olivenöl	0,06	0,35	1,45	0
5,0 „ + phys. Lös.	0,1	0,8	3,5	
5,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,1	1,7	8,0	+ 4,5
5,0 „ + 1 „ Olivenöl	0,1	1,0	4,5	+ 1,0
1,0 Pankreas + phys. Lös.	0,1	0,7	3,0	
1,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,2	1,6	7,0	+ 4,5
1,0 „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,35	0,35	0	
1,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,1	1,0	4,5	+ 1,5
2,0 Leber + phys. Lös.	0,1	0,8	3,5	
2,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,1	2,1	10,0	+ 6,5
2,0 „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,25	0,25	0	
2,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,2	1,2	5,0	+ 2,0
2,0 „ gekocht + 1 ccm Olivenöl	0,3	0,3	0	
2,0 Milz + phys. Lös.	0,06	0,8	3,7	
2,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,2	1,9	8,5	+ 5,5
2,0 „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,25	0,25	0	
2,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,1	1,1	5,0	+ 1,5
2 ccm Serum + phys. Lös.	0,05	0,06[4])	0,05	
2 „ „ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,1[4])	0,25	+ 0,2
2 „ „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,06	0,06	0	
10 „ „ + phys. Lös.	0,05	0,1	0,25	
10 „ „ + 4 ccm Monobutyr.	0,06	0,25	0,95	+ 0,75
10 „ „ + 1 „ Olivenöl	0,06	0,15	0,45	+ 0,25
5,0 „ „ + phys. Lös.	0,05	0,06[4])	0,05	
5,0 „ „ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,1	0,25	+ 0,2
5,0 „ „ + 1 „ Olivenöl	0,05	0,05	0	− 0,25
5,0 Herz + phys. Lös.	0,1	1,1	5,0	
5,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,1	1,25	5,75	+ 0,75
5,0 „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,3	0,3	0	
5,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,1	1,0	4,5	− 0,5
5,0 Niere + phys. Lös.	0,3	1,1	4,0	
5,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,3	1,6	6,5	+ 2,5
5,0 „ + 1 „ Olivenöl	0,3	1,0	3,5	− 0,5

[1]) Das Auftreten der Rosafärbung durch einen kleinen Tropfen einer $^n/_{20}$-Natronlauge bezeichne ich durch 0,05.

[2]) Gekocht sind die Kontrollversuche.

[3]) War ein größerer Tropfen erforderlich, so wird er durch 0,06 bezeichnet.

[4]) Bei der Bestimmung der sehr geringen Säuregradsteigerung können leicht Fehler entstehen.

Tabelle II.
(A und B.)

A. Die am 4. IV. 1908, von einem gegen Diphtherie immunisierten, durch Blutentnahme getöteten Pferde erhaltenen Schilddrüse und Pankreas wurden 2 Tage in der Kälte antiseptisch aufbewahrt und am 6. IV. zerkleinert.

Name und Menge des Organs g	6. IV. vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
0,5 Schilddr. + 4 ccm Wasser	0,05	0,1	0,25	
0,5 „ + 4 „ Monobutyr.	0,05	0,4	1,75	+ 1,5
0,5 „ gekocht + Monobutyr. . . .	0,06	0,06	0	
2,0 „ + Wasser	0,1	0,8	3,5	
2,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,15	1,4	6,25	+ 3,0
2,0 „ + 1 „ Olivenöl	0,1	0,8	0	
2,0 „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,3	0,3	0	
2,0 Pankreas + Wasser	0,15	1,5	6,75	
2,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,2	3,5	16,5	+ 10,0
2,0 „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,4	0,4	0	
2,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,2	2,6	12,0	+ 5,5

B. Die am 23. IV. von einem gegen Scharlach immunisierten, durch Blutentnahme getöteten Pferde erhaltenen Schilddrüse und Leber wurden gleich zerkleinert und verarbeitet.

Name und Menge des Organs g	23. IV. vor dem Versuch ccm	Nach 47 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
0,5 Schilddr. + phys. Lös.	0,05	0,15	0,5	
0,5 „ + 5 ccm Monobutyr.	0,05	0,5	2,25	+ 1,75
0,5 „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0,06	0	
0,5 „ + 1 ccm Olivenöl	0,05	0,1	0,25	— 0,25
5,0 „ + phys. Lös.	0,1	1,3	6,0	
5,0 „ + 5 ccm Monobutyr.	0,1	3,0	1,45	+ 8,5
5,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,1	1,45	6,75	+ 0,75
5,0 Leber + phys. Lös.	0,4	3,1	13,5	
5,0 „ + 5 ccm Monobutyr.	0,5	4,5	20,0	+ 7,0
5,0 „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,8	0,8	0	
5,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,4	3,7	16,5	+ 3,0

Tabelle III.

Die von einem am 31. V. 1908 durch Blutentnahme aus der Art. Carotis getöteten, gut ernährten grauen Kaninchen männlichen Geschlechts erhaltenen zerkleinerten Schilddrüsen (Gesamtgewicht nicht über 0,1 g) Pankreas, Leber, Milz, Nieren, Hoden, Gehirn, Muskel, Blut-

körper und das durch Zentrifugieren erhaltene Serum wurden gleich zu dem Versuch verwandt.

Name und Menge des Organs g	31. V. vor dem Versuch ccm	Nach 45 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
0,05 Schilddr. + phys. Lös.	0,05	0,05	0	
0,05 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0.075	0,1	+ 0,1
0,5 Pankreas + phys. Lös.	0,05	0,25	1.0	
0,5 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,6	2,75	+ 1,75
0,5 „ + 5 „ Äthylbutyr.	0,1	0,45	1,75	+ 1,0
5 ccm Äthylbutyr. + phys. Lös.	0,1	0,1	0	
0.5 Pankreas gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,06	0,06	0	
0,5 „ + 4 ccm Tributyrin	0.05	0,4	1,75	+ 0,75
0,5 „ + 1 „ Olivenöl	0,05	0,35	1,5	+ 0,5
0,25 Milz + phys. Lös.	0,05	0,1	0,25	
0,25 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,45	2,0	+ 1,75
0,25 „ + 1 „ Olivenöl	0,05	0,1	0	
1,0 Leber + phys. Lös.	0,06	0,45	1,75	
1,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,1	0,8	3,5	+ 1.75
1,0 „ + 5 „ Äthylbutyr.	0,15	0,8	3.25	+ 1,5
1,0 „ + 4 „ Tributyr.	0,06	0,7	3.2	+ 1,45
1,0 „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,1	0,2	0.5	?
1,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,06	0,5	2 25	+ 0,5
3,0 „ + phys. Lös.	0,1	1,1	5,0	
3,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,2	2,1	9,5	+ 4,5
3,0 „ + 1 „ Olivenöl	0,2	1,8	8,0	+ 3,0
1,0 Hoden + phys. Lös.	0,05	0,2	0.75	
1,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,4	1,75	+ 1,0
1,0 „ + 1 „ Olivenöl	0,05	0,25	0,1	+ 0,25
1,0 Lunge + phys. Lös.	0,05	0,4	1.75	
1,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,8	3,75	+ 2,0
1,0 „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,1	0,1	0	
1.0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,05	0,35	1,25	− 0,5
5 ccm Serum + phys. Lös.	0,05	0,1	0,25	
5 „ „ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,45	2,0	+ 1,75
5 „ „ + 5 „ Äthylbutyr.	0,15	0,25	0,5	+ 0,25
5 „ „ + 1 „ Olivenöl	0,05	0,1	0	
2,0 „ „ + phys. Lös.	0,05	0,15	0,5	
2,0 „ „ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,2	0.75	+ 0,25
2,0 „ „ + 1 „ Olivenöl	0,05	0,15	0.5	0
1,0 Niere + phys. Lös.	0,06	0,4	1,7	
1,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,1	0,9	4,0	+ 2,5
1,0 „ + 5 „ Äthylbutyr.	0,15	0,6	2,25	+ 0,55
1,0 „ + 4 „ Tributyr.	0,06	0,4	0	
1,0 „ + 1 „ Olivenöl	0,06	0,4	0	
2,0 Gehirn + phys. Lös.	0,06	0,3	1,2	
2,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,06	0,5	2,2	+ 1,0
2.0 „ + 1 „ Olivenöl	0.06	0,25	1,0	− 0,2
2.0 Herz + phys. Lös.	0.05	0,6	2.75	
2,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,2	1,1	4,5	+ 2,5
2,0 „ + 1 „ Olivenöl	0,2	0,4	1,0	− 1,0
2,0 Muskel + phys. Lös.	0,2	1,0	4,0	
2,0 „ + 4 ccm Monobutyr.	0,2	1,2	5,0	+ 1,0
2,0 „ + 1 „ Olivenöl	0,2	1,0	1,0	0

Tabelle IV (A und B).

A. Die von einem am 20. IX. 1908 durch Blutentnahme aus der Art. Carotis getöteten Hunde erhaltenen Organe wurden an einen kühlen Ort gestellt und am 21. IX. zerkleinert. Das Serum wurde nach Koagulieren durch Absetzen gewonnen.

Name und Menge des Organs g	21. IX. vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregrad-steigerung ccm	Fettsäuregrad-steigerung ccm
0,5 Schilddr. + phys. Lös.	0 05	0.1	0,25	
0,5 „ + 5 ccm Monobutyr.	0 05	0,55	2,5	+ 2,25
0,5 „ + 0,5 „ Olivenöl	0,05	0.1	0.25	0
0,5 Pankreas + phys. Lös.	0,05	0,5	2,25	
0,5 „ + 5 ccm Monobutyr.	0.1	0,9	4,0	+ 2,0
0,5 „ + 0,5 „ Olivenöl	0.05	0,7	3.25	+ 1,0
1,0 Milz + phys. Lös.	0,05	0,6	2,75	
1,0 „ + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0.9	4,25	+ 1,5
1,0 „ + 0,5 „ Olivenöl	0.05	0,6	2,75	0
1,0 Leber + phys. Lös.	0,05	0,5	2,5	
1,0 „ + 5 ccm Monobutyr.	0,1	1,1	5,0	+ 2,5
1,0 „ + 0,5 „ Olivenöl	0 05	0,5	2,5	0
5 ccm Serum + phys. Lös.	0,1	0,1	0	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr.	0,1	0.5	2,0	+ 2,0
5 „ „ + 0,5 „ Olivenöl	0,1	0,1	0	
2,0 Lunge + phys. Lös.	0 06	0.55	2,5	
2.0 „ + 5 ccm Monobutyr.	0,1	0.8	3,5	+ 1,25
2,0 „ + 0.5 „ Olivenöl	0.1	0,6	2 5	
2,0 Gehirn + phys. Lös.	0 06	0,35	1.5	
2,0 „ + 5 ccm Monobutyr.	0,1	0,65	2,75	+ 1,5
2,0 „ + 0,5 „ Olivenöl	0,1	0,35	1,25	− 0,25

B. 11. X. 1908. Großer gesunder Hund von 20,5 kg Gewicht, 35 ccm aus der linken Vena jugularis gewonnenes Blut zentrifugiert; 10 ccm des Gemisches, bestehend aus 5 ccm Serum und 45 ccm sterilisierter physiologischer Lösung mit und ohne 5 ccm Monobutyrinlösung waren vor dem Versuche titriert und neutral gefunden. Nach 45 Stunden langem Stehen im Thermostaten brauchten 10 ccm des Serumgemisches 0,1 ccm einer $^n/_{20}$-Natronlauge zur Neutralisation und 10 ccm aus dem das Monobutyrin enthaltenden Kolben wurden durch 0,55 ccm derselben Lauge neutralisiert. Die Differenz betrug also 0,45 ccm, folglich sind auf 50 ccm 2,9 ccm erforderlich. Der Hund wog am 21. X. 21,5 kg und wurde durch Blutentnahme aus der Art. Carotis getötet. Das Serum wurde nach Koagulieren durch Absetzen erhalten.

Name und Menge des Organs g	21. X. vor dem Versuch ccm	Nach 50 Std. ccm	Säuregrad-steigerung ccm	Fettsäuregrad-steigerung ccm
0.8 Schilddr. + phys. Lös.	0,05	0,15	0,5	
0,8 „ + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0,9	4,2	+ 3,75
0,8 „ + 5 „ Äthylbutyr.	0,15	0,3	0,75	+ 0.25
0,8 „ + 5 „ Tributyr.	0,05	0,4	1,75	+ 1,25

Tabelle IV B (Fortsetzung).

Name und Menge des Organs g	21. X. vor dem Versuch ccm	Nach 50 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
5,0 ccm Serum + phys. Lös.	0,06	0,15	0,45	
5,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,06	0,55	2,45	+ 2,0
5,0 „ „ + 5 „ Äthylbutyr. . . .	0,1	0,25	0	
5,0 „ „ + 5 „ Tributyr.	0,06	0,2	0,75	+ 0,3
5,0 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0,06	0	
5,0 Äthylbutyrin + phys. Lös.	0,1	0,1	0	
1,0 Leber + phys. Lös.	0,1	0,6	2,5	
1,0 „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,1	1,4	6,5	+ 4,0
1,0 Milz + phys. Lös.	0,06	0,5	2,2	
1,0 „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,1	1,1	5,0	+ 3,0
1,0 „ + 5 „ Äthylbutyr. . . .	0,15	0,75	2,5	+ 0,3
1,0 „ + 5 „ Tributyr.	0,1	0,75	3,25	+ 1,75
1,0 „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,2	0,2	0	
0,8 Pankreas + phys. Lös.	0,05	0,3	1,25	
0,8 „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,1	1,1	5,0	+ 4,0
0,8 „ + 5 „ Äthylbutyr. . . .	0,15	0,8	2,75	+ 1,5
0,8 „ + 5 „ Tributyr.	0,1	0,8	2,75	+ 3,25
0,8 „ + 1 „ Olivenöl	0,06	0,6	2,7	+ 1,5
1,0 Lunge + phys. Lös.	0,05	0,2	0,75	
1,0 „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,1	0,9	4,0	+ 3,5
1,0 „ + 0,5 „ Olivenöl	0,5	0,2	0,75	0
1,0 Hoden + phys. Lös.	0 05	0,2	0,75	
1,0 „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,06	0,8	3,7	+ 3,0
1,0 „ + 5 „ Äthylbutyr. . . .	0,15	0,7	2,25	+ 1,5
1,0 „ + 5 „ Tributyr.	0,06	0,7	3,2	+ 2,5
1,0 „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,1	0,1	0	
1,0 Gehirn + phys. Lös.	0,05	0,2	0,75	
1,0 „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,05	0,45	2,0	+ 1,25
1,0 „ + 0,5 ccm Olivenöl	0,05	0,15	0,5	− 0,25

Die lipolytische Kraft berechnete ich aus der Differenz der Säuregradsteigerung in dem betreffenden Versuche mit und ohne Fettzusatz, weil nämlich in den Versuchen ohne Fettzusatz immer eine durch verschiedene Gründe hervorgerufene, außerhalb der Fettspaltung vor sich gehende Säuregradsteigerung stattfindet. Die so berechneten Zahlen geben offenbar einen zu niedrigen Wert der wirklichen Fettsäuregradsteigerung an.

Aus den angeführten Tabellen geht hervor, daß die Schilddrüse zu den energisch fettspaltenden Organen gehört, indem an erster Stelle die Leber und Pankreas stehen. Die Rindermilz erwies sich der Schilddrüse gegenüber aktiver, bei Hunden aber war es umgekehrt. In der Tabelle II B gaben 5 g der Pferdeschilddrüse 8,5 ccm und 5 g der Leber nur 7 ccm Säuregradsteigerung; diese Zahlen haben natürlich keinen absoluten Wert,

weil die Leber einen der Schilddrüse gegenüber mehr als zweimal höheren Säuregrad besitzt.

Von den mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschenen Hundeorganen (Tabelle IV A) erwies sich das Schilddrüsengewebe als energischstes monobutyrinspaltendes Organ. Beim Hunde stand dieses Organ immer an erster Stelle, und ihm folgten dann Pankreas, Leber und Milz, beim Rinde dagegen war es umgekehrt. Die natürlichen Fette wurden von geringen frischen Schilddrüsenmengen (0,5 bis 2 g) nicht gespalten, von größeren (5 g) sehr schwach. Von dem lipolytisch bedeutend schwächeren Blutserum könnte man dasselbe sagen, denn nur bei größeren Mengen (10 ccm) wurde in einigen Fällen eine schwache Spaltung künstlicher Fette beobachtet. In Versuchen mit verhältnismäßig geringem Pankreas und Lebermengen fand dagegen in den meisten Fällen eine deutliche Spaltung auch natürlicher Fette statt. Eine Säuregradsteigerung wurde in Versuchen mit Monobutyrin und gekochtem Lebergewebe (Tabelle III) mehrere Male konstatiert. Die Hoden und Milz spalten natürliche Fette bedeutend energischer als die Schilddrüse und resp. die Rindermilz. Das Pankreas- und Leberfettspaltungsvermögen zu künstlichen und natürlichen Fetten variiert stark; in einigen Fällen erwies sich 1 g Leber (Tabelle IV A) 0,5 ccm Olivenöl gegenüber als vollständig inaktiv. Es könnte sich hier vielleicht einerseits um eine rein mechanische Ursache, d. h. Mangel an Berührung der Lipase mit dem Fett handeln, anderseits aber um den Zustand des betreffenden Organs im Augenblick des Todes: Ruhezustand oder energische Tätigkeit. Von diesem Standpunkt aus muß zwischen den Rinderorganen mit fast unaufhörlicher Verdauung und Hundeorganen mit periodischer Verdauung ein bedeutender Unterschied sein.

Von den künstlichen Fetten wird durch die Schilddrüse das Monobutyrin am leichtesten, das Tributyrin weniger, das Äthylbutyrin kaum wahrnehmbar gespalten. An erster Stelle steht die Schilddrüse des Hundes, dann die des Pferdes und zuletzt die des Rindes.

Von den bedeutend zahlreicheren Versuchen mit in einem elektrischen Ventilator bei niedriger Temperatur getrockneten Organen will ich hier auch nur die wenigsten anführen. Die Ausbeute aus verschiedenen frischen Rinderorganen war folgende:

Name und Menge des frischen Organs		Getrocknete Ausbeute	Berechnung
g		g	%
80	Schilddrüse	22,5	28
210	Niere	43,0	20
75	Herz	17	23
170	Milz	35	20
200	Leber	45,9	24
50	Pankreas	14,9	30

Pankreas und Schilddrüse geben ca. 30% trockener Substanz, das Blutserum 8 bis 10%, die übrigen Organe ca. 20%.

Tabelle V.

Die im Laufe des April und Mai 1908 im elektrischen Ventilator bei niedriger Temperatur getrochneten Rinderorgane wurden nach 10 bis 25 Tagen zu folgenden Versuchen angewandt.

Name und Menge des Organs	Vor dem Versuch	Nach 45 Std.	Säuregradsteigerung	Fettsäuregradsteigerung
g	ccm	ccm	ccm	ccm
0,2 g Schilddr. + phys. Lös.	0,05	0,1	0,25	
0,2 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0,05	0,35	1,5	+ 1,25
0,2 „ „ + 4 „ Äthylbutyr. . . .	0,15	0,25	0	
4 ccm Äthylbutyr. + phys. Lös. . . .	0,1	0,1	0	
0,3 g Schilddr. + phys. Lös.	0,06	0,2	0,7	
0,3 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0,1	0,65	2,75	+ 2,25
0,3 „ „ + 4 „ Monobut. + 25 ccm Glycerin	0,1	0,5	2,0	+ 1,5
0,3 „ „ + 4 ccm Monobut. + 25 ccm Glycerin	0,1	0,4	1,5	+ 1,0
0,3 „ „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,1	0,1	0	
0,3 „ „ + 4 ccm Äthylbutyr. . . .	0,2	0,3	0	
0,3 „ „ + 4 „ Tributyrin . . .	0,1	0,35	1,25	+ 0,75
0,3 „ „ + 1 „ Olivenöl	0,06	0,2	0	
0,5 „ „ + phys. Lös.	0,06	0,3	1,2	
0,5 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0,1	0,8	3,5	+ 2,5
0,5 „ „ + 8 „ „ . . .	0,1	1,4	6,5	+ 5,5
0,5 „ „ gekocht + 8 ccm Monobutyr.	0,15	0,15	0	
1,0 „ „ + phys. Lös.	0,15	0,7	2,75	
1,0 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0,2	1,25	5,25	+ 2,75
1,0 „ „ + 8 „ „ . . .	0,25	1,9	8,25	+ 6,0
1,0 „ „ gekocht + 8 ccm Monobutyr.	0,2	0,2	0	
1,0 „ „ + 4 ccm Äthylbutyr. . . .	0,2	0,75	0	
1,0 „ „ + 4 „ Tributyrin . . .	0,15	1,0	4,25	+ 1,5
1,0 „ „ + 1,5 ccm Olivenöl . . .	0,1	0,75	3,25	+ 0,5
1,0 „ „ + 1,5 „ Leinöl	0,15	0,85	3,5	+ 0,75
0,2 „ Pankreas + phys. Lös.	0,2	0,5	1,5	
0,2 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0,2	1,0	4	+ 2,5
0,2 „ „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,25	0,25		
1,0 „ „ + phys. Lös.	1,0	2,3	6,5	
1,0 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	1,0	4,3	16,5	+ 10,0

Tabelle V (Fortsetzung).

Name und Menge des Organs g	Vor dem Versuch ccm	Nach 45 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
1,0 g Pankreas + 1 ccm Olivenöl	0,8	3,1	11,0	+ 4,0
1,0 „ „ + 1 „ Leinöl	0,8	3,3	12,5	+ 5,0
1,0 „ „ + 4 „ Tributyrin . . .	1,0	3,9	14,5	+ 8,0
1,0 „ „ gekocht + 1 ccm Leinöl . .	0,9	0,9	0	
1,0 „ Leber + phys. Lös.	0,6	1,4	4,0	
1,0 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0,7	3,2	12,5	+ 9,0
1,0 „ „ + 1 „ Leinöl	0,7	2,5	9,0	+ 5,5
1,0 „ Milz + phys. Lös.	0,5	2,0	7,5	
1,0 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0,6	3,8	16,0	+ 9,0
1,0 „ „ + 4 „ Tributyrin . . .	0,6	3,2	13,0	+ 6,0
1,0 „ „ + 1 „ Leinöl	0,6	2,9	11,5	+ 4,5
1,0 „ Niere + phys. Lös.	0,4	1,0	3,5	
1,0 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0,4	1,6	6,0	+ 3,0
1,0 „ „ + 5 „ Tributyrin . . .	0,4	1,2	4,0	+ 1,0
1,0 „ „ + 1 „ Olivenöl	0,35	0,95	3,0	− 0,5
1 ccm Serum + phys. Lös.	− 0,05	0	+ 0,3	
1 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0	0,2	1,0	+ 1,3
1 „ „ + 1 „ Leinöl	− 0,06	0	+ 0,3	
1 g Herz + phys. Lös.	0,6	1,0	2,0	
1 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0,6	1,2	3,0	+ 1,0
1 „ „ + 1 „ Olivenöl	0,6	1,0	3,0	0

Tabelle VI (A und B).

A. Durch Blutentnahme aus der Art. Carotis am 3. IV. 1908 getöteter großer Hund, dessen Organismus nach Öffnung des Brustkorbes durch die Aorta mit physiologischer Kochsalzlösung (0,85 %) unter Druck aufs sorgfältigste ausgewaschen wurde. Die im elektrischen Ventilator bei niedriger Temperatur getrockneten Organe wurden am 17. IV. mit dem durch Absetzen und Zentrifugieren erhaltenen getrockneten Blutserum zu folgenden Versuchen angewandt.

Name und Menge des Organs g	Vor dem Versuch ccm	Nach 44 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
0,05 g Schilddr. + Wasser	0,05	0,06	0,05	
0,05 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . .	0,05	0,2	0,75	+ 0,7
0,1 „ „ + Wasser	0,05	0,1	+ 0,25	
0,1 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . .	0,06	0,40	1,7	+ 1,5
0,1 „ „ gekocht + 4 ccm Monobut.	0,06	0,06	0	
0,1 g Pankreas + Wasser	0,05	0,25	1,0	
0,1 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . .	0,1	0,7	3,0	+ 2,25
0,1 „ „ gekocht + 4 ccm Monobut.	0,06	0,06	0	
0,1 „ „ + 1 ccm Olivenöl	0,05	0,25	1,0	0
0,1 „ Leber + Wasser	0,06	0,2	0,7	
0,1 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . .	0,06	0,7	3,2	+ 3,0
0,1 „ „ + 1 „ Olivenöl	0,06	0,2	0	
0,1 „ „ gekocht + 4 ccm Monobut.	0,06	0,06	0	
0,1 „ Milz + Wasser	0,05	0,2	0,75	

Tabelle VI A (Fortsetzung).

Name und Menge des Organs g			Vor dem Versuch ccm	Nach 44 Std. ccm	Säuregrad-steigerung ccm	Fettsäuregrad-steigerung ccm
0,1 g	Milz	+ 4 ccm Monobutyr. . . .	0,05	0,4	1,75	+ 1,0
0,1 „	„	+ 1 „ Olivenöl	0,05	0,2	0	
0,1 ccm	Serum	+ Wasser	− 0,05	0,1	0,75	
0,1 „	„	+ 4 ccm Monobutyr. . . .	0	0,25	1,25	+ 0,75
0,1 „	„	+ 1 „ Olivenöl	− 0,05	0,1	0,75	+ 0
0,1 g	rote Blutkörper	+ Wasser	0,05	0,05	0	
0,1 „	„	„ + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,1	0,25	+ 0,25
0,1 „	„	„ + 1 „ Olivenöl .	0,05	0,05	0	
0,1 „	Lunge	+ Wasser	0,05	0,06	0,05	
0,1 „	„	+ 4 ccm Monobutyr. . . .	0,05	0,25	0,95	+ 0,9
0,1 „	„	+ 1 „ Olivenöl	0,05	0,05	0	
0,1 „	Niere	+ Wasser	0,1	0,15	0,25	
0,1 „	„	+ 4 ccm Monobutyr. . . .	0,1	0,35	1,25	+ 1,0
0,1 „	„	+ 1 „ Olivenöl	0,1	0,15	0,25	0
0,1 „	Muskel	+ Wasser	0,06	0,1	0,2	
0,1 „	„	+ 4 ccm Monobutyr. . . .	0,06	0,2	0,7	+ 0,5
0,1 „	„	+ 1 „ Olivenöl	0,06	0,1	0	

B. Die von zwei durch Blutentnahme aus der Art. Carotis getöteten (1. V. und 30. IX.) Hunden im elektrischen Ventilator bei niedriger Temperatur getrockneten Organe und das durch Absetzen und Zentrifugieren erhaltene getrocknete Blutserum wurde nach 5 Wochen zu folgenden Versuchen angewandt.

Name und Menge des Organs g			Vor dem Versuch ccm	Nach 44 Std. ccm	Säuregrad-steigerung ccm	Fettsäuregrad-steigerung ccm
0,2 g	Schilddr.	+ phys. Lös.	0,05	0,1	0,25	
0,2 „	„	+ 5 ccm Monobutyr. . . .	0,06	0,6	2,80	+ 2,5
0,5 „	Pankreas	+ phys. Lös.	0,1	0,8	3,5	
0,5 „	„	+ 5 ccm Monobutyr. . . .	0,1	2,3	11,0	+ 7,5
0,5 „	„	+ 0,5 ccm Olivenöl	0,1	1,6	7,5	+ 4,0
0,5 „	Milz	+ phys. Lös.	0,25	0,85	3,0	
0,5 „	„	+ 5 ccm Monobutyr. . . .	0,25	1,5	6,25	+ 3,25
0,5 „	„	+ 1 „ Olivenöl	0,25	0,9	3,25	+ 0,25
0,5 „	Lunge	+ phys. Lös.	0,2	0,9	3,5	
0,5 „	„	+ 5 ccm Monobutyr. . . .	0 25	1,55	7,0	+ 3,25
0,5 „	„	+ 0,5 ccm Olivenöl . . .	0,2	0,85	3,25	− 0,25
1,0 „	Leber	+ phys. Lös.	0,3	1,5	6,0	
1,0 „	„	+ 5 ccm Tributyrin . . .	0,3	3,0	13,5	+ 7,5
1,0 „	„	+ 1 „ Leinöl	0,3	1,8	7,5	+ 1,5
1,0 „	Niere	+ phys. Lös.	0,5	1,4	4,5	
1,0 „	„	+ 5 ccm Monobutyr. . . .	0,6	1,9	6,5	+ 2,0
1,0 „	„	+ 1 „ Leinöl	0,5	1,4	4,5	
1,0 „	Muskel	+ phys. Lös.	0,7	1,1	2,0	
1,0 „	„	+ 5 ccm Monobutyr. . . .	0,7	1,3	3,0	+ 1,0
1,0 „	„	+ 1 „ Leinöl	0,7	1,0	1,5	− 0,5
1,0 „	„	gekocht + 5 ccm Monobut.	0,9	0,9	0	

Tabelle VI B (Fortsetzung).

Name und Menge des Organs g	Vor dem Versuch ccm	Nach 44 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
0,5 g Gehirn + phys. Lös.	0,15	0,35	1,0	
0,5 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,2	0,55	2,0	+ 1,0
0,5 „ „ + 1 „ Olivenöl	0,15	0,3	0,75	— 0,25
0,5 ccm Serum + phys. Lös.	0,1	0,3	1,0	
0,5 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,1	0,65	2,75	+ 1,75
0,5 „ „ + 1 „ Leinöl	0,1	0,3	1,0	0
0,2 g Hoden + phys. Lös.	0,1	0,45	1,75	
0,2 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,15	0,85	3,35	+ 2,0
0,2 „ „ + 0,5 ccm Leinöl	0,1	0,6	2,25	+ 0,75

Aus den Tabellen V und VI geht hervor, daß die fettfettspaltenden Eigenschaften der Organe beim Trocknen derselben unter bestimmten Kautelen nur geschwächt werden, aber sogar im Laufe von Jahren nicht verloren gehen. Das Fettspaltungsvermögen der Hundeschilddrüse erweist sich auch im getrockneten Zustande der Rinderdrüse gegenüber energischer, Pankreas, Leber, Milz und Nieren der Rinder dagegen den betreffenden Hundeorganen gegenüber aktiver. Der lipolytischen Kraft nach würden die Organe ungefähr in folgender Reihenfolge stehen: Leber, Pankreas, Milz, Hoden, Schilddrüse, Lunge, Niere, Herz, Blutserum, Muskel und Gehirn. Die roten Blutkörperchen sind lipasefrei oder enthalten nur sehr geringe Mengen derselben; die im Blut vorhandene Lipase gehört dem Serum an.

Die getrocknete Schilddrüse spaltete natürliche Fette dagegen nur in größeren Mengen (nicht weniger als 1,0 g, Tabelle V) und nur in besonders günstigen Verhältnissen, bedingt offenbar durch das Trocknen und gute Mischen mit dem Fett.

Aus Tabelle VI A geht hervor, daß nicht nur die Milz, sondern auch Pankreas und Leber in gewissen Fällen den natürlichen Fetten gegenüber als inaktiv sich erwiesen haben.

In der folgenden Tabelle sind die Versuche mit der Schilddrüsenextraktlipase dargestellt (Tabelle VII). Die am 22. X. 1908 im elektrischen Ventilator bei niedriger Temperatur getrockneten Schilddrüsen normaler Pferde wurden am 16. I. 1909 verrieben: 1. 10,0 g Schilddrüse mit 100 ccm destilliertem Wasser; 2. 10,0 g mit 100 ccm physiologischer

Kochsalzlösung; 3. 10,0 g mit 100 ccm Glycerin und 2 Tage digeriert, durch Filtrierpapier filtriert, wobei das Glycerinextrakt für diese Zeit in den Termostaten bei 37 bis 38° gestellt wurde. Die Extraktrückstände wurden zwischen Filtrierpapier getrocknet; die 1:10 hergestellten Extrakte dienten zu folgenden Versuchen.

Tabelle VII.

Extraktmenge	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
0,5 ccm Schilddr.-Wasserextrakt + phys. Lös.	0,1	0,9	4,0	
0,5 „ Schilddr.-Wasserextrakt + 5 ccm Monobutyr.	0,1	1,6	7,5	3,5
0,5 „ Schilddr.-Wasserextrakt, gekocht, + 5 ccm Monobutyr.	0,3	0,3	0	
0,5 „ Schilddr.-Wasserextrakt + 10 ccm Alkohol + 5 ccm Monobutyr.	0,1	0,6	2,5	− 1,5
5 „ Glycerinextrakt + phys. Lös.	0,06	0,06	0	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0,2	0,7	+ 0,7
0,6 g Glycerinrückstand + phys. Lös.	0,06	0,4	1,7	
0,6 „ „ + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0,8	3,7	+ 2,0
0,6 „ Glycerinrückstand, gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,2	0,2	0	
5 ccm physiol. Lös.-Extrakt + Physiol. Lös.	0,3	0,45	0,75	
5 „ phys. Lös.-Extrakt + 5 ccm Monobutyr.	0,3	1,1	4,0	+ 3,25
5 „ phys. Lös.-Extrakt + 10 ccm Alkohol + 5 ccm Monobutyr.	0,3	0,4	0,5	− 0,25
0,6 g phys. Lös.-Rückstand + phys. Lös.	0,06	0,25	0,95	
0,6 „ phys. Lös.-Rückstand + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0,6	2,7	+ 1,75
5 ccm Wasserextrakt + phys. Lös.	0,3	0,35	0,25	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr.	0,3	1,5	6,0	+ 5,75
5 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,4	0,4	0	
0,6 g Wasserrückstand + phys. Lös.	0,06	0,35	1,2	
0,6 g „ + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0,5	2,2	+ 1,2
0,6 „ „ + 10 ccm Alkohol + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0,1	0,2	− 1,0

Tabelle VIII (A und B).

A. Der in 10% Kochsalzlösung am 25. IV. 1908 aus einer im elektrischen Ventilator bei niedriger Temperatur getrockneten frischen

Rinderschilddrüse hergestellte Extrakt diente am 1. V. zu folgenden Versuchen:

Drüsen- bzw. Extraktmenge	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregrad-steigerung ccm	Fettsäuregrad-steigerung ccm
0,5 g Schilddr. + phys. Lös.	0,06	0,3	1,2	
0,5 „ „ + 4 ccm Monobutyr.	0,1	0,9	4,0	+ 3,0
0,5 „ „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,15	0,15	0	
5 ccm Extrakt + phys. Lös.	0,3	0,35	0,25	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,3	0,75	2,25	+ 2,0
5 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,35	0,35	0	0

B. Die im Laufe der 5 Sommermonate mit Zusatz von Chloroform und Toluol bei Zimmertemperatur in einem dunklen Schrank aufbewahrten Rinderschilddrüse und Extrakt wurden am 29. IX. zu folgenden Versuchen angewandt:

Schilddrüsen- bzw. Extraktmenge	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregrad-steigerung ccm	Fettsäuregrad-steigerung ccm
0,5 g Schilddr. + phys. Lös.	0,06	0,3	1,2	
0,5 „ „ + 4 ccm Monobutyr.	0,1	0,8	3,5	+ 2,5
0,5 „ „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,1	0,1	0	
5 ccm Extrakt + phys. Lös.	0,35	0,35	0	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr.	0,35	0,8	2,25	+ 2,25
5 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,35	0,3	0	

Aus Tabelle VII und VIII geht hervor, daß die Pferdeschilddrüse auch in getrocknetem Zustande der Rinderdrüse gegenüber energischer fettspaltend ist und daß aus getrockneten Drüsen durch Glycerin nur eine sehr geringe, durch physiologische Kochsalzlösung und Wasser eine reichliche Lipaseextraktion erreicht werden kann. Alkoholzusatz von 20% hemmt die Lipasewirkung. Bei Zusatz geringer Mengen antiseptischer Mittel können die Schilddrüsenextrakte ohne jeglichen Verlust im Laufe längerer Zeit aufbewahrt werden.

Tabelle IX.

Der aus 20 g getrockneter, im Laufe des Sommers aufbewahrter und am 20. X. 1908 dreimal mit 200 ccm physiologischer Kochsalzlösung extrahierten Rinderschilddrüse erhaltene Extrakt (600 ccm) wurde durch Marly abgepreßt; 50 ccm des unfiltrierten, sirupartigen Auszuges, 50 ccm des durch Papier filtrierten und 100 ccm, verdünnt mit einer gleichen Menge Wasser, wurden durch ein Chamberland-Filter

vollständig klar mit leichter Opalescenz filtriert. Das Filtrat und der Filterrückstand wurden je zu folgenden Versuchen angewandt:

Schilddrüsen- bzw. Extraktmenge	Vor dem Versuch ccm	Nach 44 Std. ccm	Säuregrad-steigerung ccm	Fettsäuregrad-steigerung ccm
0,5 g Schilddr. + phys. Lös.	0,05	0,3	1,25	
0,5 „ „ + 4 ccm Monobutyr. . . .	0,06	0,7	3,2	+ 2,0
5,0 ccm unfiltr. Extrakt + phys. Lös. . . .	0,3	0,35	0,25	
5,0 „ „ „ + 4 ccm Monobutyr.	0,3	0,85	2,75	+ 2,5
5,0 „ „ „ gekocht + 4 ccm Monobutyr.	0,35	0,35	0	
5,0 „ durch Papier filtr. Extrakt + phys. Lös.	0,3	0,35	0,25	
5,0 „ durch Papier filtr. Extrakt + 4 ccm Monobutyr.	0,3	0,75	2,2	+ 2
10,0 „ durch Chamb. filtr. Extrakt + phys. Lös.	0,15	0,2	0,25	
10,0 „ durch Chamb. filtr. Extrakt + 5 ccm Monobutyr.	0,15	0,2	0,25	0
5,0 „ des Chamb.-Filterrückstd. + phys. Lös.	0,3	0,45	0,75	
5,0 „ des Chamb.-Filterrückstd. + 4 ccm Monobutyr.	0,3	0,9	3,0	+ 2,25
0,6 g des Marly-Schilddrüsen-Rückstd. + phys. Lös.	0,05	0,06	0,05	
0,6 „ des Marly-Schilddrüsen-Rückstd. + 4 ccm Monobutyr.	0,05	0,1	0,25	+ 0,2

Durch das Papierfilter wird die lipolytische Kraft der wässerigen und physiologischen Kochsalzlösungsextrakte gehemmt, beim Benutzen des Chamberlandschen Filters geht dieselbe fast vollständig verloren; dazwischen weist sie nur geringe Spuren auf.

In einigen Versuchen wurde nach der Säuregradsteigerung eine Abnahme derselben nach 40 bis 50 Stunden konstatiert; auf die hier offenbar vor sich gehende Fermentrückwirkung will ich nicht näher eingehen.

Über die Serolipase thyreodektomierter Tiere.

Hier will ich über die Veränderungen der Blutserolipase und der Lipase innerer Organe bei Tieren nach entfernter Schilddrüse berichten.

Am 25. X. 1908 wurde einem 19990 g schweren, schon einige Tage mit Hafergrütze, Pferdefleisch und Weißbrot gefütterten Hunde die ganze rechte Schilddrüsenhälfte entfernt, links wurden ein Teil der Schilddrüse und die oberen Parathyreoideen gelassen. Gleich nach der Ope-

ration fiel eine Gefäßligatur ab, die Blutung wurde nicht ohne Schwierigkeiten sistiert, und der Hund verlor ziemlich viel Blut. Am 26. X. Befinden befriedigend, guter Appetit; am 27. und 28. X. Appetit schwach, weist Durst auf, zittert beim Spaziergang; am 29. X. morgens munter, zittert aber beim Spaziergang stark, um 2 Uhr treten Krämpfe ein mit einer bald folgenden Prostration. Durch Blutentnahme aus der Art. Carotis wurde das Tier getötet; die Halswunde heilte ohne Eiterung; die nicht ausgeschnittene Schilddrüsenhälfte war nur mit Mühe zu finden; die Organe waren blutarm und wurden frisch zu folgenden Versuchen angewandt; das Serum wurde durch Absetzen erhalten.

Tabelle X (A und B).

A.

Name und Menge des Organs	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregrad-steigerung ccm	Fettsäuregrad-steigerung ccm
0,8 g Pankreas + phys. Lös.	0,4	0,7	1,5	
0,8 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,4	1,3	3,0	+ 1,5
0,8 „ „ + 5 „ Äthylbutyr. . .	0,45	0,75	0	0
0,8 „ „ + 0,5 ccm Olivenöl . . .	0,4	0,6	1,0	− 0,5
1,0 „ Leber + phys. Lös.	0,5	0,8	1,5	
1,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,5	1,5	5,0	+ 3,5
1,0 „ „ + 5 „ Äthylbutyr. . . .	0,55	0,8	1,25	− 0,25
1,0 „ Gehirn + phys. Lös.	0,1	0,25	0,75	
1,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,1	0,5	2,0	+ 1,25
5 ccm Äthylbutyr. + phys. Lös.	0,06	0,06	0	
1,0 g Milz + phys. Lös.	0,2	0,4	1,0	
1,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr.	0,2	0,9	3.5	+ 2,5
1,0 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr. .	0,4	0,4	0	
1,0 „ „ + 5 ccm Olivenöl	0,2	0,4	1,0	0
5,0 ccm Serum + phys. Lös.	0,06	0,15	0,25	
5,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,1	0,5	2,0	+ 1,75
5,0 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0,06	0	
10,0 „ „ + phys. Lös.	0,2	0,15	0,25	
10,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,2	0,85	3,5	+ 3,0

Beim Vergleich der Tabellen X A und IV A finden wir folgenden Unterschied: Bei der Monobutyrinspaltung durch 0,8 g Pankreas vom normalen Hunde ist der Säuregrad durch 4 ccm $^n/_{20}$-Natronlauge ausgedrückt, beim thyreodektomierten Hunde aber nur mit 1,5 ccm gefunden worden. Die Äthylbutyrin- und Olivenölspaltung ist nach Tabelle IV A 1,5 ccm, beim thyreodektomierten Hunde findet durch Pankreas eine solche Spaltung gar nicht statt, ebenso verhalten sich auch die Leber und Milz, Monobutyrinspaltung ist schwach, Äthylbutyrin- und Olivenölspaltung fehlen vollständig. Die lipolytische Kraft des Serums (5 ccm) war geschwächt, des Gehirns normal.

Zur Kontrolle dieser Resultate wurden aus diesen bei niedriger Temperatur mit elektrischem Ventilator getrockneten Organen (M) und solchen vom normalen Hunde (G) mit einer 10%igen Kochsalzlösung Extrakte bereitet, die, durch Marly gepreßt, zu folgenden Versuchen dienten:

B.

Organextrakte eines normalen Hundes ccm (G)	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
5,0 Pankreasextrakt + phys. Lös.	0,9	1,3	2,0	
5,0 „ + 5 ccm Monobutyr.	0,9	2,8	9,5	+ 7,5
5,0 „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	1,1	1,0	0	
5,0 Leberextrakt + phys. Lös.	0,85	1,0	0,75	
5,0 „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,9	3,1	11,0	+ 10,5
5,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,9	2,8	9,0	+ 9,0
5,0 Milzextrakt + phys. Lös.	0,8	1,2	2,0	
5,0 „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,8	2,2	7,0	+ 5,0
5,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,8	1,6	4,0	+ 2,0
Organextrakte eines thyreodektom. Hundes ccm (M)				
5,0 Pankreasextrakt + phys. Lös.	0,7	0,9	1,0	
5,0 „ + 5 ccm Monobutyr. .	0,7	2,0	6,5	+ 5,5
5,0 „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,85	0,85	0	
5,0 Leberextrakt + phys. Lös.	0,4	0,5	0,5	
5,0 „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,4	2,1	8,5	+ 8,0
5,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,4	0,6	1,0	+ 0,5
5,0 Milzextrakt + phys. Lös.	0,4	0,6	1,0	
5,0 „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,4	1,2	4,0	+ 3,0
5,0 „ + 1 ccm Olivenöl	0,4	0,7	1,5	+ 0,5

Nach dieser Tabelle ist ein geringes Abnehmen des lipolytischen Vermögens verschiedener Organextrakte thyreodektomierter Tiere, natürliche Fette zu spalten, zu konstatieren; im allgemeinen sind diese Organe den normalen gegenüber bedeutend weniger aktiv. Ich beschränke mich auf dieses eine Versuchstier (M) und halte es für richtiger, zur Aufklärung der lipolytischen Schilddrüsenfunktion die Versuche mit der Serolipase ein und derselben Individuen in normalem und thyreodektomiertem Zustande und bei Verordnung der Drüsenpräparate anzustellen. Beim Hunde (M) wurde die Serolipasebestimmung nur im thyreodektomierten Zustande, bei R und Nr. 8 in normalem, bei Nr. 1, 3, 7 in beiden und bei Nr. 9 und 10 zuerst

in normalem und dann bei innerlicher Verordnung der Schilddrüsenpräparate ausgeführt.

Das leicht gefärbte, durch Absetzen erhaltene Serum einer durch Entblutung aus der Art. Carotis am 28. I. 1909 getöteten, gut ernährten Hündin (R) diente am 31. I. zu folgenden Versuchen:

Tabelle XI.

Serummenge	Vor dem Versuch ccm	Nach 70 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
5,0 ccm Serum + Wasser	0,05	0,2	0,75	
5,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,05	0,75	3,5	+ 2,75
5,0 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,06	0,06	0	0
10,0 „ „ + Wasser	0,05	0,5	2,25	
10,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,05	1,2	5,75	+ 3,5
10,0 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,1	0,1	0	

Das in der Kälte durch Absetzen erhaltene, leicht gefärbte Serum eines durch Entblutung aus der Art. Carotis getöteten, normal ernährten Hundes (Nr. 8) diente am 25. IV. 1909 zu folgenden Versuchen:

Tabelle XII.

Serummenge	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
5,0 ccm Serum + phys. Lös.	0,15	0,1	− 0,25	
5,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,15	0,7	2,75	+ 3,0
5,0 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,15	0,25	0	
10,0 „ „ + phys. Lös.	0,35	0,3	− 0,25	
10,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,35	1,1	3,75	+ 4,0
10,0 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,2	0,2	0	

Am 16. I. 1909 wurden einem 12 kg schweren Hunde (Nr. 1) aus der rechten Art. femoralis ungefähr 100 ccm Blut entnommen und das Serum durch Zentrifugieren erhalten. Die Thyreodektomie wurde am 30. I. (Gewicht 12500 g) ausgeführt[1]) und der Hund durch Entblutung aus der Art. Carotis getötet; bei der Sektion wurde auf der rechten Seite ein Thyreoidenrest von Erbsengröße gefunden. Das durch Absetzen im Laufe von 2 Tagen erhaltene Serum war vollständig klar.

[1]) Die ausführlicheren Protokolle über dieselben Hunde sind in der zweiten Hälfte dieser Arbeit zu finden.

Tabelle XIII.

Serum des normalen Hundes Nr. 1.	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
5,0 ccm Serum + phys. Lös.	0,05	0,1	0,25	
5,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,05	0,55	2,5	+ 2,25
Serum des thyreodektomierten Hundes Nr. 1				
5,0 ccm Serum + phys. Lös.	0,2	0,1	− 0,5	
5,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,2	0,45	1,25	+ 1,75
5,0 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,25	0,25	0	
10,0 „ „ + phys. Lös.	0,5	0,3	− 1,0	
10,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,5	0,8	1,5	+ 2,5

Einem 22500 g schweren Halbblut-Windhunde (Nr. 2), abgemagert und phlegmatisch, wurden am 13. Februar 1909 aus der Art. fem. sinistra ungefähr 60 ccm Blut entnommen, dasselbe zentrifugiert und ein stark gefärbtes Serum erhalten. Am 21. Februar wurde die volle Thyreodektomie ausgeführt; am 24. Februar traten Krampfanfälle ein, nachdem aus der Art. femor. dextra 75 ccm Blut entnommen wurden, das langsam floß. Das Blut wurde zentrifugiert. Am 25. Februar starb der Hund.

Tabelle XIV.

Serum des Hundes Nr. 2 in normalem Zustande	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
5 ccm Serum + phys. Lös.	0	0,1	0,5	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0,05	0,5	2,5	+ 2,25
in thyreodekt. Zustande				
5 ccm Serum + phys. Lös.	0	0,1	0,5	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . . .	0	0,45	2,25	+ 1,75

Einem 18500 g schweren, munteren Hunde (Nr. 3) wurden am 28. Februar 1909 aus der Art. femor. 50 ccm Blut entnommen und zen-

Tabelle XV.

Serum des Hundes Nr. 3 in normalem Zustande	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
5 ccm Serum + phys. Lös.	− 0,05	0,1	0,75	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0	0,6	3,0	+ 2,5
in thyreodekt. Zustande				
5 ccm Serum + phys. Lös.	0,05	0,1	0,25	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,05	0,45	2,0	+ 1,75

trifugiert. Am 2. März wurde die volle Thyreodektomie ausgeführt, am 4. traten die thyreopriven Symptome ein, am 22. wurde das Tier durch Entblutung getötet. Die Gerinnung des Blutes ging langsam vor sich; das Serum wurde zentrifugiert.

Einem 22500 g schweren Mischblut-Jagdhund (Nr. 7), gut ernährt und munter, wurden aus der Ven. femor. am 13. April ungefähr 30 ccm Blut entnommen und zentrifugiert. Die volle Thyreodektomie wurde am 1. Mai ausgeführt und das Tier am 16. Mai durch Blutentnahme aus der Art. Carotis getötet. Das klare, durch Absetzen des langsam gerinnenden Blutes erhaltene Serum diente zu folgenden Versuchen:

Tabelle XVI.

Serum des Hundes Nr. 7 in normalem Zustande	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
5 ccm Serum + phys. Lös.	0,05	0,06	0,05	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,05	0,6	2,75	+ 2,7
in thyreodekt. Zustande				
5,0 ccm Serum + phys. Lös.	0,1	0,06	− 0,2	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,15	0,45	− 1,5	+ 1,95
10 „ „ + phys. Lös.	0,25	0,2	− 0,25	
10 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,25	0,9	3,25	+ 3,5
10 „ „ gekocht + 5 ccm Monobutyr.	0,3	0,3	0	

Einem 12350 g schweren, jungen Hunde (Nr. 9) wurden aus der Ven. femor. am 30. April ungefähr 30 ccm Blut entnommen und zentrifugiert. Vom 4. bis zum 17. Mai bekam das Tier per os ca. 26,0 g der Schilddrüsenpräparate und wurde am 17. durch Blutentnahme getötet. Das aus dem schnell fließenden Blute erhaltene, stark gefärbte Serum wurde im Laufe von 2 Tagen der Gerinnung überlassen.

Tabelle XVII.

Serum des Hundes Nr. 9 in normalem Zustande	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregradsteigerung ccm	Fettsäuregradsteigerung ccm
5,0 ccm Serum + phys. Lösung	0	0,05	0,25	
5,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0	0,55	2,75	+ 2,5
nach Einführung des Schilddrüsenpräpar.				
5 ccm Serum + phys. Lös.	0	0,1	0,5	
5 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0	0,7	3,5	+ 3,0
10 „ „ + phys. Lös.	0	0,2	1,0	
10 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0	1,2	6,0	+ 5,0
10 „ „ gekocht + 5 ccm Monobut.	0,1	0,1	0	

Einer 9500 g schweren, scheinbar jungen Hündin (Nr. 10) wurden aus der Ohrvene am 11. Mai 15 ccm Blut entnommen und zentrifugiert. Vom 14. Mai bis zum 21. Juni bekam das Tier per os ca. 70,0 g der Schilddrüsenpräparate und wurde dann durch Blutentnahme getötet. Das Serum wurde durch 2 Tage dauerndes Absetzen erhalten.

Tabelle XVIII.

Serum des Hundes Nr. 10 in normalem Zustande	Vor dem Versuch ccm	Nach 48 Std. ccm	Säuregrad-steigerung ccm	Fettsäuregrad-steigerung ccm
3,0 ccm Serum + 30 ccm phys. Lös. . .	− 0,05	0	+ 0,25	
3,0 „ „ + 3 „ Monobutyr. . .	0	0,5	2,5	+ 2,5
nach Einführung des Schilddrüsenpräpar.				
5,0 ccm Serum + phys. Lös.	0,25	0,2	− 0,25	
5,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,35	0,85	2,5	+ 3,25
10,0 „ „ + phys. Lös.	0,25	0,2	− 0,25	
10,0 „ „ + 5 ccm Monobutyr. . .	0,35	1,3	4,75	+ 5,5

Beim Vergleich der letzten 9 Tabellen mit der Tabelle IV B geht hervor, daß bei den 9 Hunden im normalen Zustande 5 ccm des Blutserums mit 5 ccm einer 1%igen Monobutyrinlösung bei einem Volumen von 50 ccm im Durchschnitt eine Säuregradsteigerung von 2,52 ccm der $^n/_{20}$-Natronlauge bei einer Differenz von 2,2 bis 3,0 ccm geben. Bei 5 Hunden mit entfernter Schilddrüse betrug die Säuregradsteigerung im Durchschnitt 1,82 ccm bei einer Differenz von 1,75 bis 2 ccm, bei 2 hyperthyreoidierten Hunden im Durchschnitt 3,12 ccm bei einer Differenz von 3 bis 3,25 ccm. Bei thyreodektomierten Tieren findet also eine Abnahme der lipolytischen Tätigkeit des Blutserums statt, bei Verordnung aber der Schilddrüsenpräparate im Gegenteil eine Zunahme derselben. In den Tabellen XIII bis XVIII sind die Versuche mit einzelnen Individuen dargestellt: Bei der Thyreodektomie wurde also immer eine Abnahme der Serolipaseaktivität konstatiert, bei Hyperthyreodismus dagegen eine Zunahme derselben. Bei den Versuchen mit Kaninchen waren die Resultate nicht so charakteristisch und demonstrativ, wie es bei den Hunden der Fall war.

Zusammenfassung der Schilddrüsenlipasewirkung.

Aus den erzielten Resultaten geht eine der Milz und den Hoden gleich starke, energisch fettspaltende Eigenschaft der

Schilddrüse hervor, und nur Pankreas und Leber sind in dieser Beziehung stärker aktiv. Von den künstlichen Fetten steht an erster Stelle die Spaltung des Monobutyrins, dann des Tributyrins, Äthylbutyrins, und bedeutend schwächer ist sie bei natürlichen Fetten. Die Schilddrüsen der fleischfressenden Tiere (Hunde) sind denen der grasfressenden (Pferde, Kühe) gegenüber aktiver; bei der Kuh ist die Aktivität geringer als beim Pferde.

Beim Trocknen der Schilddrüse bei niedriger Temperatur findet eine kaum wahrnehmbare Schwächung des fettspaltenden Fermentes statt. Das Ferment wird von Glycerin sehr wenig extrahiert, sehr leicht aber mit Wasser und physiologischer Kochsalzlösung; es wird beim Kochen zerstört, bei Anwesenheit von 20 bis 25% Alkohol gehemmt, vom Chamberlandschen Filter zurückgehalten und kann bei Zusatz von Chloroform und Toluol längere Zeit aufbewahrt werden. Eine Entfernung der Schilddrüse bei Hunden ist immer von einer Abnahme der Serolipaseaktivität des Blutes und vielleicht auch anderer Organe und schweren thyreopriven Symptomen, der Hyperthyreodismus dagegen von einer Steigerung derselben begleitet.

II. Über die oxydierenden Enzyme der Schilddrüse.

Die oxydierenden Fermente.

Über die Bedeutung der Schilddrüse für die Oxydation berichten verschiedene Forscher, indem sie diese interessante Frage indirekt, d. h. durch Bestimmung des aufgenommenen Sauerstoffs, des ausgeschiedenen Kohlendioxyds und des Stoffwechsels bei Hyper- und Hypothyreoidismus zu lösen versuchten. In einer meiner früheren Arbeiten habe ich die ausführliche Literatur zu dieser Frage angeführt. Auf die oxydierenden Prozesse im Pflanzen- und Tierreich resp. oxydierenden Fermente bin ich in einer noch nicht veröffentlichten Arbeit näher eingegangen.

Die Katalasemenge wurde aus der volumetrisch bestimmten Sauerstoffmenge berechnet. Die frische Hundeschilddrüse wurde im Laufe von 6 Tagen mit Wasser unter Zusatz von Chloroform und Toluol an einem kühlen Ort extrahiert. 5 ccm dieses Extraktes, entsprechend 0,2 g der Drüse, gaben mit 5 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung in einem

Volumen von 20 ccm 9,4 ccm Sauerstoff; 0,2 g des Drüsengeweberestes gaben in demselben Fall 8,3 ccm Sauerstoff. 5 ccm Extrakt zersetzten nach 2 Minuten dauerndem Kochen Wasserstoffsuperoxyd nicht mehr.

Ein Rinderschilddrüsenextrakt, entsprechend 0,25 g der Drüse, gab 17,2 ccm Sauerstoff. Die Drüsengewebereste wurden in dem Falle nicht untersucht.

Aus einer frisch getrockneten Pferdeschilddrüse wurden folgende 10%igen Extrakte mit Glycerin, Wasser und physiologischer Kochsalzlösung präpariert:

2 ccm Glycerinextrakt, entsprechend 0,2 g der trockenen Drüse, gaben im Laufe von $^1/_2$ Stunde mit 10 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung in einem Volumen von 30 ccm nur 0,8 ccm Sauerstoff. 1 ccm Wasserextrakt, entsprechend 0,1 g der trockenen Drüse, gab in demselben Fall 33,5 ccm und 1 ccm des physiologischen Kochsalzlösungextrakts, entsprechend 0,1 g der trockenen Drüse, 53,2 ccm Sauerstoff. 10 ccm der Extrakte II und III wurden mit 40 ccm Alkohol gefällt, die Niederschläge abfiltriert und in 20 ccm Wasser gelöst. 2 ccm dieser Extraktlösung I, entsprechend 0,1 g der Drüse, gaben 34,8 ccm, 1 ccm der Extraktlösung II, entsprechend 0,05 g der Drüse, 28,1 ccm Sauerstoff. Die gekochten Extraktniederschlaglösungen zersetzten eine Wasserstoffsuperoxydlösung nicht.

5,0 g einer frischen, blutarmen Rinderschilddrüse gaben nach 5 Tage dauerndem Stehen an einem kühlen Ort mit 5 ccm einer 10%igen Pyrogallollösung, 80 ccm Wasser und 10 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung im Thermostaten nach 24 Stunden 0,06 g verhältnismäßig reines Purpurogallin.

Eine 0,5 g Drüse entsprechende Extraktmenge gab 0,0072 g Purpurogallin.

5,0 g einer frischen Pferdeschilddrüse gaben in demselben Fall 0,083 g Purpurogallin, eine 1,0 g der frischen Drüse entsprechende Extraktmenge — 0,0275 g Purpurogallin.

Die 0,5 g einer frischen Hundeschilddrüse entsprechende Extraktmenge — 0,02 g.

Zum Vergleich sind hier die Katalase und Peroxydasebestimmungen im Blute dieses durch Blutentnahme aus der Art. Carotis getöteten Versuchshundes männlichen Geschlechts, bei dem die Schilddrüse ebenfalls entfernt wurde, angeführt:

0,1 ccm Blut und 10 ccm 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung — 14 ccm Sauerstoff, 5 ccm H_2O_2 —, 12,1 ccm Sauerstoff, 0,1 ccm gekochtes Blut und 10 ccm 1%iges H_2O_2 gaben im Laufe von 1 Stunde ungefähr 0,1 ccm Sauerstoff. 5 ccm durch Absetzen erhaltenes, gefärbtes Serum ergaben 8 ccm, 5 ccm vorsichtig abgegossenes, kaum gefärbtes Serum 1,1 ccm Sauerstoff.

5 ccm Blut, 5 ccm 10%ige Pyrogallollösung, 80 ccm Wasser und 10 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung gaben 0,073 g, 5 ccm durch Absetzen erhaltenes, farbloses Serum — nicht einmal Spuren von Purpurogallin.

Die ausführlichen Beobachtungen über alle oxydierenden Fermente bei einem jedem Versuchstier habe ich im Russischen veröffentlicht und will hier näher nur auf den Hund Nr. 3 eingehen, weil dieses Tier ein besonderes Interesse bietet. Über die Hunde Nr. 1, 2, 3, 9 und 10 habe ich kurz bei der Lipasebestimmung berichtet. Dem scheinbar jungen, 15000 g schweren Hunde (Nr. 5), Temp. 38,8°, wurde am 18. März die volle Thyreodektomie ausgeführt, am 23. traten epileptische Anfälle ein, Gewicht 14850 g und am 26. starb das Tier.

Dem 2400 g schweren, grauen männlichen Kaninchen (Nr. 1) wurde die teilweise Thyreodektomie am 4. Februar 1909 ausgeführt; keine Störungen, Gewicht am 4. März 2530 g.

Dem 2750 g schweren, weiblichen Kaninchen (Nr. 2) wurde am 14. Februar 1909 die ganze Schilddrüse mit Ausnahme des äußeren Parathyreoidpaars entfernt. Gewicht am 23.: 2600 g. Im April verstärkter Haarausfall und eine Entzündung des linken Auges. Gewicht am 12. April 2500 g, getötet durch Blutentnahme.

Dem 18500 g schweren, munteren, schwarzen Halbblut-Hunde (Nr. 3), Temp. 38,8°, wurde am 27. Februar aus der Ohrvene Blut entnommen. 5 ccm desselben gaben 0,092 g Purpurogallin, 0,1 ccm und 5 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung ergaben 8,7 ccm O_2; 0,1 ccm und 10 ccm 1%iges H_2O_2 lieferten 9,6 ccm Sauerstoff. Am 28. Februar wurde aus der Art. femoralis Blut entnommen. 5 ccm nicht defibriniertes Blut gaben 0,081 g Purpurogallin; aus 0,1 ccm und 5,0 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung erhielt man 8,3 ccm O_2, bei 10 ccm 1%iges H_2O_2 — 11,1 ccm Sauerstoff. Gewicht am 2. März 18500 g, Temp. 38,7°, Blut aus der Ohrvene entnommen, 5 ccm Blut lieferten 0,088 g Purpurogallin, 0,1 ccm ergaben 7,7 ccm Sauerstoff. Am selben Tage wurde die volle Thyreodektomie ausgeführt. Befinden am 3. befriedigend, am 4. (11 Uhr) Zittern, schnelles Atmen und Krämpfe, um 2 Uhr legte das Tier sich hin und fing an sehr stark zu zittern. 5 ccm aus der Ohrvene in solchem Zustande entnommenes Blut gaben 0,0575 g Purpurogallin; aus 0,1 ccm und 5 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung erhielt man 7,4 ccm O_2, mit 10 ccm 1%ige H_2O_2 — 8,4 ccm Sauerstoff. Am Abend keine Veränderung im Zustande; nach einem Klystier fand eine Entleerung und Erleichterung des allgemeinen Zustandes statt.

Am 5. Befinden bedeutend besser, Appetit gut; bekam Hafergrütze und Fleisch. Nach einigen Stunden eine starke Schwäche, Zittern, Frösteln und Krampfanfälle. Nach einem am Abend gegebenen Klystier wieder eine leichte Besserung; Nahrung nur Milch und Wasser. Gewicht am 6. März 17000 g, Temp. 38,6°, Eiweißspuren im gelblich-grünen Harn. Aus der Ohrvene floß das Blut nur langsam. 5 ccm Blut gaben 0,0395 g Purpurogallin, 0,1 ccm mit 10 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung lieferte 8,4 ccm Sauerstoff, mit 5 ccm 1%iger H_2O_2 — 7,5 ccm O_2.

Am 5. trat eine volle Rigidität der Füße ein, am 7., 8. und 9. automatische Bewegungen, Zucken und starkes Frösteln sowie Stoßen des Kopfes an die Wand.

Am 8. an der Operationsstelle eine Geschwulst, Temp. 38,9°, beim Entfernen der Naht erschienen 20 bis 25 ccm Blutwasser, wonach die Stelle mit Jodtinktur bepinselt wurde. Am 9. wieder Jod, Gewicht 16000 g. Aus der Ohrvene langsam rinnendes Blut entnommen. 5 ccm gaben 0,085 g Purpurogallin; 0,1 ccm mit 5 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung lieferten 7,4 ccm Sauerstoff, mit 10 ccm 1%igem H_2O_2 — 8 ccm O_2.

Am 11. bekam das Tier ein wenig Hafergrütze außer der Milch. Am 13., Temp. 38,6°, die Operationsstelle so ziemlich geheilt, das Tier liegt zusammengezogen und reagiert auf keinen äußeren Reiz, macht einen vollständig apathischen Eindruck, greift aber zur Speise, Abnahme der Muskelrigidität. Am 17., 18. und 19. wenig Appetit und schläft beständig, auf keinen Reiz reagierend. Gewicht am 19. 14500 g, Temp. 37,4°, 5 ccm Blut aus der Ohrvene ergaben 0,055 g Purpurogallin, 0,1 ccm mit 5 ccm 1%igem H_2O_2 lieferten 3,1 ccm Sauerstoff, mit 10 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung — 3,7 O_2. Am 22. März, Temp. 37,5°, liegt bewußtlos, steht nur nach längerem Aufstoßen auf und legt sich wieder gleich, auf keinen Reiz reagierend, kein Appetit, durch Blutentnahme aus der Art. Carotis am selben Tage getötet. Das Blut gerinnt langsamer als normales. 5 ccm ergaben 0,051 g Purpurogallin, 0,1 ccm mit 5 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung lieferten 5 ccm O_2, mit 10 ccm 6,2 ccm Sauerstoff. Bei der Sektion wurde von der Schilddrüse nichts aufgefunden, in den inneren Organen aber ein vollständig genügender Vorrat von Fett.

Zusammenfassung der Resultate der oxydierenden Schilddrüsenfermente.

Ein reicher Katalasengehalt ist also im Schilddrüsengewebe durch die berichteten Resultate nachgewiesen. 0,2 g des betreffenden Gewebes gaben 17,7 ccm Sauerstoff, 1 g also 88,5 ccm O_2. Die Schilddrüsen der grasfressenden Tiere sind denen der fleischfressenden gegenüber aktiver. Ein aus 0,1 g der getrockneten Rinderschilddrüse hergestelltes Extrakt, entsprechend 0,33 g

der frischen Drüse gab 53,2 ccm Sauerstoff. Das Trocknen der Drüse bei niedriger Temperatur hat auf die Katalasenaktivität keinen zerstörenden Einfluß. Das Kochen zerstört das Ferment vollständig. Auf die bedeutend komplizierteren Bedingungen zwischen dem Kochen und der Peroxydase will ich hier nicht näher eingehen. Durch Glycerin kann die Katalase nicht extrahiert werden, leicht aber durch Wasser und besonders schnell durch die physiologische Kochsalzlösung. Aus den Lösungen kann die Katalase durch Alkohol, ohne Aktivitätsverlust zu leiden, gefällt werden. Der Gehalt des oxydierenden Ferments, in dem betreffenden Fall der Peroxydase, ist in der Hundeschilddrüse bedeutend höher als beim Pferde und besonders bei den Rindern. 5,0 g der frischen Pferdeschilddrüse gaben 0,083 g Purpurogallin, 5,0 g der Rinderdrüse 0,06 g, ein aus 0,5 g der Rinderdrüse hergestelltes Extrakt 0,0072 g, aus 1,0 g Pferdedrüse 0,0275 g, aus 0,5 g der Hundedrüse 0,02 g Purpurogallin. Eine Bestimmung des Purpurogallins aus 5 g der Hundedrüse konnte von mir nicht gemacht werden; laut Berechnung aus verschiedenen Versuchen war die Menge desselben um 0,1 g höher als aus 5 ccm Blut (= 0,073 g Purpurogallin). Das Lösen der Katalase und die Bestimmung derselben verlief natürlich beim Blute, das in Wasser gelöst war, bedeutend schneller und leichter als beim Schilddrüsengewebe.

Katalase und die oxydierenden Fermente konnten nur in den Blutkörpern nachgewiesen werden, aber nicht im farblosen Serum vollständig normaler Hunde. Bei einigen Versuchen entwickelten sich Spuren von Sauerstoff, bedingt offenbar durch eine sehr geringe Anwesenheit von Blutkörpern. Zur vollen Übersicht sind die Versuche mit der Entfernung der Schilddrüse beim Hunde in der Tabelle XIX dargestellt.

Aus dieser Tabelle geht ein höherer Katalasengehalt der grasfressenden Tiere (Kaninchen) gegenüber dem der fleischfressenden (Hund) deutlich hervor; sie ist zugleich ein Beweis für die bedeutend energischeren oxydierenden Prozesse beim Hunde- als beim Kaninchenblute. Der Katalasengehalt im Blute verschiedener Individuen variiert sehr stark: 0,1 ccm Blut des Hundes Nr. 7 mit 5 ccm 1%igem H_2O_2 gaben 14,4 bis 16,0 ccm Sauerstoff, beim Hunde Nr. 10 aber nur 5,4 bis 5,7 ccm O_2. Die individuellen Unterschiede bei den oxydierenden Fermenten

Tabelle

Nr.	Hund Nr. 1			Hund Nr. 2			Hund Nr. 3			Hund Nr. 5		
	Purpurogallinmenge g	Sauerstoff ccm 1	2	Purpurogallinmenge g	Sauerstoff ccm 1	2	Purpurogallinmenge g	Sauerstoff ccm 1	2	Purpurogallinmenge g	Sauerstoff ccm 1	2
1			9,3	0,07	13,5	14	0,092	8,7	9,6	0,111 / 0,117	5,1	6,2
2	0,064	9,2	11,9	0,067	13,9		0,081	8,3	11,1	0,116	6,5	7,3
3		9,1		0,069	11,7		0,088	7,7		0,112	7,4	8,2
	Teilweise Thyreodektomie			Volle Thyreodektomie			Volle Thyreodektomie			Volle Thyreodektomie		
1	0,044	8		0,068	8,7 / 11,8		0,0575	7,4	8,4	0,059 / 0,064	4,1	5,6
2		5,5 / 6,1		0,064	12,6		0,0395	7,5	8,4			
3		7,4 / 8,4		0,039	12,0		0,085	7,4	8,0			
4	0,058		9,3				0,055	3,1	3,7			
5	0,058	7,5	9,7				0,051	5,0	6,2			

1 sind die Versuche mit 5 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung.

2 sind die Versuche mit 10 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung.

waren nicht so groß. Einer Entfernung der Schilddrüse folgte eine geringe Katalasenabnahme (Hunde Nr. 1, 3 und Kaninchen Nr. 2). Bei Verordnung der Schilddrüsenpräparate per os fand zuerst eine Zunahme, dann eine Katalasenabnahme unter den normalen Wert statt (Hund Nr. 9). Die Zahl der Beobachtungen ist hier zu gering, um den Einfluß des Hyperthyreodismus genügend aufzuklären. Was die oxydierenden Blutprozesse thyreodektomierter Tiere anbetrifft, so sind die Beobachtungen mit Hunden und Kaninchen von bedeutendem Interesse. Beim Kaninchen findet nach der Thyreodektomie eine Abnahme der oxydierenden Blutenergie und dann eine Zunahme bis zur Norm statt, beim Kaninchen Nr. 2 kam es sogar bis zu einer Steigerung derselben über die Norm. Beim Hunde war es immer umgekehrt, nicht nur bei voller, sondern auch bei teilweiser Thyreodektomie

XIX.

Hund Nr. 7			Kaninchen Nr. 1			Kaninchen Nr. 2			Hund Nr. 9			Hund Nr. 10		
Purpurogallinmenge g	Sauerstoff ccm 1	2	Purpurogallinmenge g	Sauerstoff ccm 1	2	Purpurogallinmenge g	Sauerstoff ccm 1	2	Purpurogallinmenge g	Sauerstoff ccm 1	2	Purpurogallinmenge g	Sauerstoff ccm 1	2
0,078					36	0,028	24,4 / 28,9		0,0715	12,7	15,4	0,092	5,4	6,5
	16	18,5	0,036		36,6	0,03	22,6		0,083	11,1	13,3	0,089	5,7	7,2
0,081	14,4	18,7	0,031		38,2									
Entfernung der Lymphatdrüsen			Teilweise Thyreodektomie			Volle Thyreodektomie			Bei Verordnung der Schilddrüsenpräparate					
0,074	15,5	19,6			36,6	0,02	19,9		0,084			0,106	6,7	8,3
0,11			0,015		30,0	0,015	16,4		0,094	13,0	14,4	0,098	6,2	7,4
0,078	13,5	16,4	0,035		35,2 / 35,3	0,024	16,4		0,115	14,1	18,2			
0,83						0,034	16,0		0,098	10,3	14,4			
						0,037	17,5							
Volle Thyreodektomie														
1. 0,069														
2. 0,085														
3. 0,064														
4. 0,059	13,4	17,0												

1 sind die Versuche mit 5 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung.

2 sind die Versuche mit 10 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung.

wurde immer eine Abnahme konstatiert (Nr. 5, 3 und 1), sogar in den Fällen, wo im allgemeinen Befinden keine Störungen beobachtet wurden. Eine geringe Fermentabnahme fand beim Hunde Nr. 2, der an einem schweren Magenleiden litt und nicht lange lebte, statt. Beim Hunde Nr. 3 waren die Resultate mit Ausnahme des Versuches Nr. 3 (0,085 g Purpurogallin) sehr deutlich und demonstrierend, bedingt möglicherweise durch die Verschlimmerung der Wunde, Ausscheidung des Sekrets, Temperatursteigerung und Verordnung von Jod. Die zeitweilige Oxydationszunahme im Versuch Nr. 2 beim Hunde Nr. 7 hatte vielleicht dieselben Gründe. Von ganz besonderem Interesse ist die Oxydationszunahme des Blutes bei thyreodektomierten Hunden, die von einem Infektionszustand und einer Temperatursteigerung begleitet ist. Diese Beobachtung steht mit den allbekannten

klinischen Kenntnissen über den Einfluß der Infektion und Temperatursteigerung auf die Abnahme verschiedener schwerer psychischer Zustände in keinem Widerspruch. Beim Hunde Nr. 7 wurde die oxydierende Fermentmenge in normalem Zustand bestimmt, dann am Halse in der Nähe der Schilddrüse eine bedeutend schwerere Operation als die Thyreodektomie, die Entfernung von lymphatischen Drüsen ausgeführt und nicht nur eine Fermentabnahme, sondern eine geringe Zunahme konstatiert. Eine später vollzogene Thyreodektomie rief eine schnelle Fermentabnahme hervor. Bei Verordnung der Schilddrüsenpräparate fand im Anfang eine gewisse Fermentzunahme, dann aber eine geringe Abnahme statt (Hund Nr. 9). Die gleichzeitige Katalasenabnahme erfordert weitere spezielle Studien. Von Interesse sind die äußeren Erscheinungen einer thyreopriven Autointoxikation bei den Hunden Nr. 7 und besonders Nr. 3, wo eine gewisse Ähnlichkeit mit den katatonischen Symptomen beim Menschen sich wahrnehmen läßt. Beim Hunde Nr. 5 war der Zustand den epileptischen Krämpfen ähnlich.

Die Beobachtungen der in einen warmen Kellerraum untergebrachten Versuchstiere geschah mit gewissen Pausen, und deshalb konnte vielleicht so manches Interessante nicht wahrgenommen werden. Bei Verabreichung der Fleischnahrung wurde der Zustand beim Hunde Nr. 3 besonders schwer, beim Ersatz derselben durch Milchdiät und Verordnung eines Klystiers zur Entleerung trat aber schnelle Besserung ein. Der praktische Arzt kennt die große Bedeutung der Darmentleerung bei vielen und schweren nervösen Leiden. Die Beobachtungen über eine Abnahme der Temperatur bei der Thyreodektomie an Hunden und eine Steigerung derselben beim Hyperthyreoidismus sind sehr zahlreich. Über denselben Wechsel bei Kaninchen habe ich schon berichtet. In einer ganzen Reihe von Versuchen konstatierte ich die Abnahme der Blutgerinnung bei thyreodektomierten Tieren und eine Zunahme bei Verordnung der Schilddrüsenpräparate. Im Harne thyreodektomierter Tiere waren Eiweiß und Gallenpigmente vorhanden.

Allgemeine Schlußfolgerungen.

Ein verhältnismäßig weniger schwerer Zustand nach der Thyreodektomie bei den grasfressenden Tieren als bei den

fleischfressenden, sowie die betreffenden Veränderungen der Oxydationsprozesse des Blutes können nicht durch die Anwesenheit des äußeren Parathyreoidpaares bei den ersteren nach Entfernung der Schilddrüse erklärt werden. Eine volle Parathyreodektomie bei Kaninchen ist niemals von so schweren Erscheinungen begleitet wie bei Hunden.

Die Folgen der Fleischernährung und der Ersatz derselben durch Pflanzenkost oder Milchdiät sprechen für eine bedeutende Differenz der Ernährung und Verdauung bei den Pflanzenfressern und Carnivoren, aber keineswegs für einen, nur von den Parathyreoideen abhängigen Zusammenhang. Die Bedeutung der Nahrung bei der Thyreodektomie wurde schon durch zahlreiche Beobachtungen hervorgehoben; von den neueren Arbeiten müssen die von Parhon und Goldstein angeführt werden. Die Rolle der Schilddrüse im Organismus der gras- und fleischfressenden Tiere ist zweifellos ganz verschieden, und schon die verschiedene Größe dieses Organs deutet ebenfalls darauf hin. Die von uns angewandte Methode kann natürlich nicht zur Bestimmung der oxydierenden Prozesse bei thyreodektomierten Tieren als Kriterium dienen, weil es außerdem viele, nicht unter dem Fermenteinfluß verlaufende, wichtige oxydierende Prozesse gibt und deren Wirkung spezifisch sein kann. Trotzdem muß die Verminderung der oxydierenden Tätigkeit, bestimmt durch die Pyrogallolmethode, bei thyreodektomierten Tieren berücksichtigt werden.

Es gibt im Organismus natürlich nicht speziell Pyrogallol oxydierende Fermente, aber über das Vorhandensein spezifischer Fermente, die eine ganze Reihe von dem Pyrogallol nahestehenden Verbindungen einer Oxydation zu unterwerfen vermögen, haben schon viele Forscher berichtet.

Ausführlicher kennen wir diese Fermente aus dem Pflanzenreich. Oxydase, Lactase und Peroxydase, Superoxyd können nicht nur Pyrogallol, sondern Jodwasserstoff, Poliphenole und aromatische Amine oxydieren (Chodat und Bach, Stoedlin). Wir kennen die Zahl und den Kreis der Verbindungen, die einer fermentativen Oxydation unterliegen können, noch nicht, und wollten wir hier nur außer denen mit geschlossenem Benzolring noch die verwandten und nahestehenden Derivate des Indols, Skatols, Tryptophans und anderer zusammenfassen,

so wird die große Bedeutung des Ferments für das Leben und die Funktionsstörungen, die bei der gestörten Tätigkeit der Fermente zu stande kommen, verständlich. Die betreffenden, als Eiweißspaltungsprodukte erscheinenden Körper gehen durch die Darmwand in das Blut über.

Der Einfluß der Thyreodektomie auf die lipolytischen und oxydierenden Blutprozesse ist zurzeit nur schwer andeutbar. Diese Wirkung kann zweierlei Art sein: entweder nimmt die Drüse an der Fermentproduktion Anteil, oder es treten als Folge der Schilddrüsenentfernung diese Störungen im Organismus, begleitet von lipolytischen und oxydierenden Prozeßstörungen im Blute, ein.

Die Bedeutung der Schilddrüse im Organismus ist wohl noch größer und weiter; viele Forscher weisen auf einen Zusammenhang mit den Nucleinen hin. Bei den Versuchstieren wurden in normalem und pathologischem Zustande von mir im Harn die Purinkörper und die Harnsäure bestimmt und gewisse Abweichungen von der Norm konstatiert.

Einer vorsichtigen Verordnung der Schilddrüsenpräparate per os folgte im Anfang eine Steigerung der lipolytischen und oxydierenden Prozesse mit einer gleichzeitigen Alexin- und Opsoninzunahme im Blute; bei dauerndem Gebrauch und Steigerung der Dosis fand im Gegenteil eine Abnahme aller dieser Eigenschaften mit Vergiftungserscheinungen und folgenden Tode statt. Die Schilddrüsentätigkeit kann keineswegs durch eine innerliche Verordnung der Präparate ersetzt werden. Die Giftigkeit des Thyreojodins, Thyreoantitoxins und anderer Schilddrüsenpräparate erfordert sogar bei Erkrankung dieser Drüse, resp. beim operativen Eingreifen eine ganz besondere Vorsicht.

Die Ursachen der Schilddrüsenhypertrophie sind meistens unbekannt. Niemand wird es wohl wagen, bei Hypersekretion der Milz, bei Infektion oder Hypertrophie der Leber resp. Nieren Exstirpation vorzuschlagen. Übrigens will ich hier nicht näher auf verschiedene Fragen der praktischen Medizin eingehen.

Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Fibrinfermentes und des Fibrinogens in Körperflüssigkeiten und in Organen.

Vorläufige Mitteilung.

Von

J. Wohlgemuth.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Königl. Universität Berlin.)

(Eingegangen am 26. März 1910.)

Sämtliche Methoden zur Bestimmung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes, die bisher bekannt geworden sind, sind sogenannte Zeitmethoden, d. h. sie sind so beschaffen, daß man mit ihrer Hilfe die Zeit bestimmt, die eine frisch gewonnene Blutprobe braucht, um zu gerinnen. So haben Vierordt, Russel und Brodie, Sabrazès, Wright, Fuld, Bürker, Schultz u. a. Methoden angegeben, die mehr oder weniger häufig Verwendung gefunden haben, und die alle dem gleichen Zwecke dienen, den Eintritt der Gerinnung in einem kleinen Quantum oder in einem Tropfen Blut zeitlich genau festzustellen. Wenn auch manche dieser Methoden verhältnismäßig gut übereinstimmende Werte liefern, so haben sie doch alle den Nachteil, daß man mit ihnen nur die Gerinnungszeiten bestimmen kann und nicht die in gleichen Zeiten umgesetzten Substanzmengen. Derartige Methoden sind aber an sich nicht geeignet, das Wirkungsgesetz eines Fermentes zu ermitteln, noch viel weniger gestatten sie Rückschlüsse auf die Fermentquantitäten, solange die Gesetzmäßigkeit der Fermentwirkung noch nicht bekannt ist.

Ich habe mich darum bemüht, eine Methode zu schaffen, bei welcher der Zeitpunkt ein für allemal fixiert bleibt, dagegen die beiden Faktoren, die bei der Blutgerinnung ausschlaggebend sind, das Fibrinferment und das Fibrinogen quantitativ bestimmt werden.

Quantitative Bestimmung des Fibrinfermentes.

Wenn man frisches Blut aus der Ader entnimmt und es durch Schlagen mit einem Glasstab defibriniert, so ist in dem Serum dieses so behandelten Blutes Fibrinferment in bestimmter Menge vorhanden. Um dessen Quantität genau festzustellen, gehe ich folgendermaßen vor:

Eine Reihe von Reagensgläsern wird mit absteigenden Mengen des ganz frisch gewonnenen Fibrinfermentes (Serums) beschickt, die Volumdifferenzen mit den entsprechenden Quantitäten 1%iger kalkfreier Kochsalzlösung ausgeglichen und nun zu jeder Portion je 2 ccm eines nach Alexander Schmidt hergestellten Magnesiumsulfatplasmas zugefügt. — Das Plasma gewinne ich in der Weise, daß ich vom Hund oder vom Kaninchen mittels einer Kanüle aus der Femoralis oder der Carotis drei Teile Blut in ein Teil der vorgeschriebenen Magnesiumsulfatlösung (1:3) einfließen lasse, unter starkem Abkühlen gründlichst durchmische und durch scharfes Zentrifugieren das Plasma von den Blutkörperchen trenne. Dieses Plasma hält sich im Eisschrank wochenlang, ohne seinen Gehalt an Fibrinogen wesentlich zu ändern. — Nachdem die Gläschen in der oben geschilderten Weise mit Serum, Kochsalzlösung und Plasma beschickt sind, werden sie, um jeden schädlichen Einfluß der Wärme auf das Fibrinferment zu vermeiden, in den Eisschrank gesetzt und 24 Stunden darin belassen. Während dieser Zeit geht die Gerinnung in den einzelnen Gläschen, soweit sie einen hinreichenden Fibrinfermentgehalt besitzen, vor sich. Nach Ablauf der Frist nimmt man sie aus dem Eisschrank heraus und stellt nun, ohne zu schütteln, nur durch horizontales Neigen eines jeden Röhrchens fest, wo eine Gerinnung stattgefunden hat und wo sie ausgeblieben ist. Dabei beobachtet man, daß in dem Gläschen mit viel Serum der ganze Inhalt erstarrt ist (komplett), dann folgen solche, in denen nur eine teilweise Gerinnung stattgefunden hat (partiell), ferner solche, in denen

ein kleines Gerinnsel zu konstatieren ist (etwas, Spur), und endlich solche, bei denen nur ein feines Häutchen zu beobachten ist, oder die absolut klar geblieben sind (—). Als Beispiel sei eine Versuchsreihe angeführt.

Serummenge	Plasma ccm	Nach 24stündigem Aufenthalt im Eisschrank
1 = 1,0	2,0	komplett
2 = 0,5	2,0	komplett
3 = 0,25	2,0	komplett
4 = 0,125	2,0	komplett
5 = 0,062	2,0	fast komplett
6 = 0,032	2,0	partiell
7 = 0,016	2,0	etwas
8 = 0,008	2,0	etwas
9 = 0,004	2,0	—

Was nun die Berechnung der Fibrinfermentmenge aus einem solchen Versuch anbetrifft, so gehe ich dabei in der Weise vor, daß ich diejenige Serummenge als Einheit setze, die noch imstande ist, ein deutlich erkennbares Gerinnsel zu erzeugen — in dem mitgeteilten Versuch wäre es die in Gläschen 8 enthaltene Menge 0,008 ccm — und nun berechne, wieviel Fibrinfermenteinheiten in 1 ccm Serum enthalten sind. Für den vorliegenden Fall würden sich also an Fibrinfermenteinheiten für 1 ccm Serum $\frac{1,0}{0,008} = 125$ ergeben. Der Abkürzung halber sei mit Ff die Menge der Fibrinfermenteinheiten in 1 ccm Serum bezeichnet, somit würde obiger Versuch ergeben Ff = 125.

Auf diese Weise kann man gleichzeitig ohne Mühe eine Reihe von Sera auf ihren Ff-Gehalt untersuchen und zahlenmäßig belegen. Die Methode ist außerordentlich einfach und bequem und erfordert keine besonderen apparatlichen Vorkehrungen.

Quantitative Bestimmung des Fibrinogens.

Für die quantitative Bestimmung des Fibrinogens existieren bisher nur zwei Methoden, die Methode von Reye (Dissertation, Straßburg 1898), die darin besteht, daß man zu 12 Teilen Fluoridplasma 30 Teile Wasser zusetzt und mit 16 Teilen einer gesättigten Lösung von Ammoniumsulfat fällt, und das Ver-

fahren von Doyon, Morel und Péju (Compt. rend. Soc. Biol. 58, 657, 1905), welche die Fällung mit Essigsäure vornehmen. Beide haben den Nachteil, daß sie verhältnismäßig große Mengen Blut beanspruchen und ihre weitere Durchführung umständlich und zeitraubend ist.

Die Methode, die ich zur quantitativen Bestimmung des Fibrinogens ausgearbeitet habe, ist wiederum eine Reihenmethode und beansprucht zu ihrer Ausführung zwei Lösungen 1. eine Fibrinogenlösung der Blutart, in welcher der Fibrinogengehalt bestimmt werden soll und 2. eine gut wirksame Fibrinfermentlösung. Letztere kann man sich jederzeit herstellen, indem man Blut frisch entnimmt, defibriniert und zentrifugiert; das Serum ist dann sofort für den Versuch zu verwenden. — Die Fibrinogenlösung stelle ich mir aus dem zu untersuchenden Blute so her, daß ich 3 ccm desselben frisch aus der Ader entnehme, mit 1 ccm der bereits oben angegebenen Magnesiumsulfatlösung mische und sofort zentrifugiere. Das auf diese Weise gewonnene Plasma enthält die in dem entnommenen Quantum Blut vorhandene gesamte Fibrinogenmenge.

Alsdann verfährt man folgendermaßen:

Eine Reihe von Reagensgläsern wird mit absteigenden Mengen der Fibrinogenlösung (Plasma) beschickt, die Volumdifferenzen mit $1\,^0/_0$iger kalkfreier Kochsalzlösung ausgeglichen und nun zu jedem Gläschen je 1 ccm der 10fach verdünnten Fibrinfermentlösung (Serum) zugefügt. Alsdann kommen sämtliche Gläschen, nachdem sie gründlichst durchgeschüttelt sind, in den Eisschrank und bleiben dort 24 Stunden. Während dieser Zeit geht in den Gläschen die Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin unter dem Einfluß des Fibrinfermentes vor sich. Man nimmt die Gläschen heraus und stellt durch Neigen eines jeden, wobei ein Schütteln vermieden werden muß, fest, wo Gerinnung eingetreten und wo sie ausgeblieben ist. In der Regel beobachtet man in den ersten 2 Gläschen der Reihe, die am meisten Plasma enthalten, keine Gerinnung, aus dem einfachen Grunde, weil die Menge des gleichzeitig vorhandenen Magnesiumsulfates den Eintritt der Fibrinbildung verhindert. Die nächsten Gläschen zeigen, sofern es sich um Blut vom normalen Tier handelt, eine komplette Gerinnung, dann folgen solche mit einer partiellen oder geringen Gerinnung und endlich Gläschen, die keine

Spur eines Gerinnsel aufzuweisen haben. Es präsentiert sich demnach eine solche Versuchsreihe folgendermaßen:

Plasma	Fibrinferment-lösung (1:10) ccm	
1 = 1,0	1,0	—
2 = 0,5	1,0	—
3 = 0,25	1,0	etwas
4 = 0,125	1,0	komplett
5 = 0,062	1,0	komplett
6 = 0,032	1,0	partiell
7 = 0,016	1,0	etwas
8 = 0,008	1,0	—
9 = 0,004	1,0	—

Die Berechnung des Fibrinogengehaltes in dem untersuchten Plasma führe ich in ganz analoger Weise aus wie die Berechnung des Fibrinfermentes. Als Fibrinogeneinheit setze ich diejenige Menge Plasma, die noch gerade ausreicht, um in Gegenwart eines Überschusses von Fibrinferment ein deutlich erkennbares Gerinnsel zu liefern. In dem mitgeteilten Versuch wäre es die im Gläschen Nr. 7 enthaltene Plasmamenge 0,016. Folglich sind in 1 ccm Plasma $\frac{1}{0{,}016} = 62{,}5$ Fibrinogeneinheiten enthalten. Der Abkürzung halber bezeichne ich mit Fg den Fibrinogengehalt von 1 ccm Magnesiumsulfatplasma; es ergibt sich demnach für den vorliegenden Fall der Wert Fg = 62,5. Eigentlich müßte man nun noch den Wert auf unverdünntes Plasma umrechnen; da aber die Verdünnung mit Magnesiumsulfatlösung immer die gleiche bleibt, so erachte ich eine solche Umrechnung für überflüssig.

Auch diese Methode ist ebenso wie die Bestimmung des Fibrinfermentes eine sehr einfache und läßt sich ohne Schwierigkeiten durchführen.

Auf die theoretische Begründung und weitere Einzelheiten beider Methoden sowie auf die zahlreichen Vorversuche, die der Festlegungen beider Methoden naturgemäß vorausgeschickt werden mußten, näher einzugehen, behalte ich mir für die demnächst erscheinende ausführliche Publikation vor.

Gewebskomponenten, die bei der Wassermannschen Reaktion beteiligt sind, insbesondere Lecithin und Cholesterin.

Von

C. H. Browning, J. Cruickshank und I. M'Kenzie.

(Aus dem Pathologischen Laboratorium der Universität Glasgow.)

(Eingegangen am 11. März 1910.)

Ein roher Extrakt aus frischer Ochsenleber wurde in folgender Weise in zwei Bestandteile zerlegt: Der trockene Rückstand wurde mit Äthylacetat bei 60° C behandelt und die klare Lösung abfiltriert. Nach der Abkühlung bleibt ein Teil in der Lösung, während ein anderer Teil sich absetzt. Der Niederschlag wurde getrocknet und in wasserfreiem Äther gelöst. Die ätherische Lösung wurde mit überschüssigem Aceton versetzt. Der so entstandene Niederschlag wurde abermals in Äther gelöst und mit Aceton niedergeschlagen. Endlich wurde der Niederschlag im kalten absoluten Äthylalkohol gelöst. Auf diese Weise wurde eine alkoholische Lösung von „reinem Lecithin" erhalten. Der im kalten Äthylacetat lösliche Teil wurde getrocknet und im absoluten Äthylalkohol gelöst.

Die biochemischen Eigenschaften der zwei Komponenten wurden untersucht, und zwar die folgenden: a) die hämolytische Wirkung; b) die Kobragifthämolysin aktivierende Fähigkeit; c) die inhibierende Wirkung auf Serum-Komplement; d) die Fähigkeit, als „Antigen" bei der Wassermannschen Reaktion zu wirken.

Die folgenden Resultate wurden erzielt: Lecithin: sehr schwach lytisch; Verhältnis der lytischen zur Kobragift akti-

vierenden Dosis 400:1; wirkt nur sehr schwach antikomplementär; Wassermannsche Antigenwirkung mäßig. Äthylacetatlösliche Komponente: mehr lytisch als das Lecithin (25 mal); Verhältnis der lytischen zur Kobragift aktivierenden Dosis 6:1; antikomplementäre Wirkung sehr stark; es gibt keine Wassermannsche Reaktion.

Bei der Beurteilung der Wassermannschen Reaktion wurden die Emulsionen immer in der Art bereitet, um eine maximale Turbidität zu erzielen. Die Kobragiftaktivierung ist unabhängig von der Turbidität. Die Lecithinemulsion ist ziemlich trübe und reagiert auf Lackmus neutral. Die äthylacetatlösliche Komponente bildet eine sehr dichte Emulsion, und es setzen sich bald Flocken ab; die Reaktion auf Lackmus ist schwach sauer. Mischt man die alkoholischen Lösungen der zwei Komponenten, so wird die antikomplementäre Wirkung der äthylacetatlöslichen Komponente aufgehoben, und die antigene Wirkung ist größer als diejenige des Lecithins allein. Emulgiert man dagegen die zwei Komponenten, jede an und für sich in Kochsalzlösung und mischt dann die Emulsionen, so wird die antikomplementäre Wirkung nicht wesentlich neutralisiert. Beide Emulsionen reagierten neutral auf Lackmus. Das Gemisch, auf irgendeine Art bereitet, besitzt eine schwächere Kobragift aktivierende Wirkung als das reine Lecithin allein.

Die alkoholische Lecithinlösung bringt eine ganz beträchtliche Menge von Cholesterin bei Zimmertemperatur zur Lösung. Eine so bereitete gesättigte Lösung von Cholesterin in alkoholischem Lecithin stellt einen sehr wirksamen Ersatz für den rohen Organextrakt bei der Wassermannschen Reaktion dar. Wahrscheinlich übertrifft sie den rohen Extrakt für die Praxis.

Die antikomplementäre Wirkung der Lecithin-Cholesterinlösung ist eine sehr geringe — im allgemeinen kleiner als diejenige eines rohen Extraktes — und sehr uniform mit verschiedenen Komplementproben. Die Emulsion wirkt schwächer hämolytisch als diejenige des Lecithins allein. Mit syphilitischem Serum wird viel mehr Komplement gebunden als von dem Lecithin allein ohne Cholesterin, während mit normalen Seris keine Zunahme des gebundenen Komplements stattfindet. Die

Komplementmenge, die unter dem Einfluß von syphilitischem Serum absorbiert wurde, war fast gleich derjenigen, die mit einem wirksamen rohen Extrakt aus frischer Ochsenleber fixiert wurde.

Die Tatsache, daß das Cholesterin eine Zunahme der durch die Zusammenwirkung von Lecithin und syphilitischem Serum gebundenen Komplementmenge bewirkt, kann vielleicht für diagnostische Zwecke einen praktischen Vorteil geben, wenn die nach der gewöhnlichen Methode ausgeführte Wassermannsche Reaktion zweifelhaft ausfällt.

Über Toxolecithide.

Zweite Mitteilung.[1])

Von

J. Morgenroth und R. Kaya.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 10. März 1910.)

I. Über die Beziehungen des Kobragifts zu Komplement und Lecithin.

Flexner und Noguchi beobachteten zuerst, daß die Hämolyse durch Schlangengifte unter Umständen von einem Zusatz von Serum abhängig ist; nach bekannten Analogien schlossen sie, daß im Schlangengift ein hämolytischer Amboceptor (oder deren mehrere) vorkommt, der durch Komplement des Serums aktiviert wird. Nachdem aber Calmette gefunden hatte, daß die Aktivierungsfähigkeit des Serums auch erhalten bleibt nach Einwirkung thermischer Einflüsse, die entsprechend der fast allgemeinen Regel Serumkomplemente unwirksam machen, entstanden Zweifel an der Richtigkeit der ursprünglichen Deutung. Als nun endlich Kyes, an Korschun und Morgenroths Versuche über die alkohollöslichen hämolytischen

---

[1]) S. diese Zeitschrift 4, 248, 1907. Literaturstellen teilen wir nur insoweit mit, als sie nicht in den bekannten Zusammenstellungen der letzten Jahre für den Fachmann leicht zu finden sind. Das wertvolle Material an Schlangengiften verdanken wir der uns oft bewährten Freundlichkeit von Prof. Calmette und Colonel Bannerman, Mr. V. W. Owen, Prof. Flexner, Prof. Shiga und Prof. Martin Jacoby, das Lecithol stellte uns die Firma J. D. Riedel freundlichst zur Verfügung.

Organextrakte unmittelbar anknüpfend, festgestellt hatte, daß kalter Alkohol dem Serum einen Aktivator für Kobragift entzieht, lag es nahe genug, an das Lecithin zu denken. Dieses erwies sich denn auch — in Form der ursprünglichen oder auch gereinigter Handelspräparate angewandt — als der wirksame Bestandteil des Serums. Als Reaktionsprodukt des Kobragiftes und des Lecithins gewann Kyes in der Folge das hämolytische „Kobralecithid".

Ungeachtet dieser Wendung der Dinge blieb doch die erste Ansicht von Flexner und Noguchi in einem gewissen Umfange zu Recht bestehen. Kyes versuchte eine Abgrenzung des Gebietes der wahren Komplementaktivierung einerseits und der Lecithinaktivierung andererseits. Hier war aber späterhin noch eine energische Grenzregulierung durch Kyes und Sachs notwendig, durch welche die von Kyes konstruierten „Endokomplemente" endgültig der Lecithinaktivierung zugeteilt wurden.

Bezüglich der Serumaktivierung des Kobragiftes zeigen sich besondere Verhältnisse beim Erwärmen des Serums, die Calmette entgangen waren und erst von Kyes erkannt wurden. Im Falle der Aktivierung durch Meerschweinchenserum z. B., die uns hier besonders interessiert, bleibt, wenn man frisches und auf 65° erwärmtes Serum vergleicht, die aktivierende Wirkung anscheinend erhalten. Untersucht man dagegen das entsprechend dem üblichen Inaktivierungsverfahren auf 56° erwärmte Serum, so nimmt man wahr, daß sich zwischen die beiden aktiven Zustände ein Zustand der Inaktivität einschaltet. Hier ist die ursprüngliche Aktivierungsfähigkeit des frischen Serums vernichtet, während die Aktivität, wie sie sich nach dem Erwärmen auf 65° zeigt, noch nicht eingetreten ist.

Angesichts dieses Verhaltens erschien eine dualistische Annahme berechtigt, dahingehend, daß im frischen Serum ein echtes Komplement (Flexner und Noguchi) zur Geltung komme, das bei 56° zerstört wird, daß dagegen in dem auf 62 bis 65° erwärmten Serum das ursprünglich in unwirksamer Form vorhandene, auf irgendwelche Weise aktionsfähig gewordene Lecithin wirksam sei. Die Zwischenstufe (56°) wäre dann dadurch charakterisiert, daß das Komplement bereits zerstört und das Lecithin noch nicht wirkungsfähig ist.

H. Sachs[1]) hat die einschlägigen Fragen neuerdings in einer sehr dankenswerten, gründlichen und klaren Darstellung besprochen. Er hatte schon früher gemeinschaftlich mit Kyes auf Grund eigener Versuche eine Anzahl Argumente zusammengestellt, die dafür sprachen, daß die Aktivierung des Kobragiftes durch frisches Meerschweinchenserum als verschieden von der Lecithinaktivierung, als echte Komplementwirkung anzusehen sei: Die Hämolyse durch Serum verläuft nur bei höherer Temperatur und verhältnismäßig langsam, während die Hämolyse mit Lecithin auch bei 0° und in der Regel rascher verläuft. Die Einwirkung von Säuren und Alkalien sowie von Papain hebt die Aktivierungsfähigkeit des frischen Serums auf, ist dagegen ohne Einfluß auf die Aktivierungsfähigkeit des Lecithins.

Endlich hemmt Cholesterin die Aktivierung durch Lecithin, während es ohne Einfluß auf die Serumaktivierung ist.

Diese Angabe konnten wir durch folgenden Versuch bestätigen:

I.

Die Cholesterinlösung wird nach Kyes und Sachs wie folgt angefertigt. 1 ccm einer heißgesättigten Lösung von Cholesterin in Methylalkohol wird heiß mit 9 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung verdünnt. Diese Cholesterinaufschwemmung dient als Stammlösung.

Ziegenblut 5%, 2mal gewaschen, 1 ccm + Kobragift 0,2 $^1/_{10}$ (1% in 0,85%iger Kochsalzlösung).

	Cholesterinlösung	A. Lecithin 0,2 $^1/_{200}$ (10%)	B. Meerschweinchenserum 0,2
1.	1,0	wohl 0	komplett
2.	0,5	Spur	„
3.	0,25	sehr wenig	„
4.	1,0 $^1/_{10}$	wenig	„
5.	0,5	mäßig	„
6.	0,25	mäßig stark	„
7.	1,0 $^1/_{100}$	stark	„
8.	0,5	sehr stark	„
9.	0,25	komplett	„
10.	0,1	„	„
11.	0	0	Spürchen, Kuppe
12.	00	0	0

Von eigenen Versuchsergebnissen, die unsere seinerzeit geäußerte dualistische Auffassung bestätigen, seien noch einige mitgeteilt.

[1]) H. Sachs, Antigene tierischen Ursprungs. Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforschung, herausgeg. v. Kraus u. Levaditi, 1, Jena 1908.

Es lag nahe, nachdem wir schon früher beim Erhitzen auf 100° in saurer Lösung einen prinzipiellen Unterschied in der Thermostabilität des Prolecithids und des Amboceptors festgestellt hatten,[1]) auch zu untersuchen, ob entsprechende Unterschiede vorhanden sind, wenn man die gewöhnliche Art des Erwärmens in neutraler Lösung wählt.

Die folgende Tabelle gibt einen derartigen Versuch wieder; eine Wiederholung mit Meerschweinchenserum als Aktivator ergab das gleiche Resultat. Es wurde in allen Fällen eine Verdünnung des 1%igen Kobragiftes 1:10 mit Kochsalzlösung im Wasserbad erwärmt und dann in gleicher Weise, einmal mit Lecithin als Aktivator, einmal mit Meerschweinchenserum der hämolytische Versuch ausgeführt. Beim Erhitzen auf 80° entstand starke Trübung, bei 90° ein spärlicher grobflockiger Niederschlag, bei 100° vereinigten sich die Niederschläge zu Häutchen.

II.

Von einer 1%igen Lösung des Kobragiftes in 0,85%iger Kochsalzlösung wird eine Verdünnung 1:10 hergestellt. Je 5 ccm der Verdünnung werden $^1/_2$ St. bei verschiedenen Temperaturen in das Wasserbad eingesetzt. Zur Aktivierung wird einerseits 0,3 $^1/_{400}$ der 10%igen Lecitholllösung in Methylalkohol, andererseits 0,1 frisches Meerschweinchenserum verwendet. Ziegenblut 1,0 5%ig, 2mal gewaschen. Die Tabelle gibt das Verhalten der unveränderten und der auf 50°, 70°, 80°, 90° erwärmten Kobragiftlösung wieder. $^1/_2$stündiges Verweilen im kochenden Wasserbad läßt bei den angewandten Mengen keine Hämolyse mehr zustande kommen.

Kobragiftlösung	Unveränd. Gift		50%		70%		80%		90%	
	Lecithin	Serum	Lecithin	Serum	Lecithin	Serum	Lecithin	Serum	Lecithin	Serum
0,5 $^1/_{10}$	—	—	—	—	kompl.	0	kompl.	0	minimal	0
0,25	kompl.	kompl.	kompl.	kompl.	„	0	f. kompl.	0	0	0
1,0 $^1/_{100}$	„	„	„	„	f. kompl.	0	mäß. stark	0	0	0
0,5	„	„	„	„	stark	0	wenig	0	0	0
0,25	„	stark	„	stark	„	0	sehr wenig	0	0	0
0,1	f. kompl.	wenig	f. kompl.	wenig	mäßig	0	minimal	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, übt $^1/_2$stündiges Erwärmen auf 50° weder auf das Prolecithid noch auf den Amboceptor eine abschwächende Wirkung aus. Dagegen bildet sich bei 70° eine charakteristische Grenze, indem hier der Amboceptor

[1]) Morgenroth und Kaya, diese Zeitschrift 8, 378, 1908.

nicht mehr nachweisbar ist, während das Prolecithid auf etwa $^1/_{10}$ des ursprünglichen Wertes abgeschwächt ist. Auch $^1/_2$stündiges Erwärmen auf 80° läßt noch einen Rest des letzteren in wirksamer Form erkennen. Es zeigt sich also auch hier ein erheblicher Unterschied im Verhalten der beiden Komponenten thermischen Einflüssen gegenüber. Die Labilität des Amboceptors ist eine ausgeprägtere als die der bekannten durch Immunisierung erzeugten hämolytischen Amboceptoren; sie schließt sich aber in charakteristischer Weise dem Verhalten normaler Amboceptoren an, die nach den Untersuchungen von Ehrlich und Sachs weit thermolabiler sind als die durch Immunisierung erzeugten.[1])

Daß die Temperatur von 70° sozusagen kritisch für die Existenz des Amboceptors ist, ergibt noch die folgende Tabelle, die zeigt, daß bei 60° noch ein erheblicher Anteil derselben erhalten bleibt.

III.

Versuchsanordnung wie im vorausgehenden Versuch; statt 0,1 Meerschweinchenserum wird 0,15 verwandt.

Kobragiftmenge	Unverändertes Gift	$^1/_2$ St. auf 60° erwärmt
0,2 $^1/_{10}$	komplett	komplett
1,0 $^1/_{100}$	"	"
0,5	"	fast ganz komplett
0,25	fast ganz komplett	stark
0,1	stark	mäßig
0	Spürchen, Kuppe	Spürchen, Kuppe

Besonders lehrreich in bezug auf die Differenz, die der Stabilität beider Komponenten überhaupt zukommt, ist der in folgender Tabelle niedergelegte Versuch.

IV.

Es werden folgende Gemische hergestellt:

A. Kobragift 1%ig in 0,85%iger Kochsalzlösung 0,7 + $^n/_1$-HCl 0.35 + 0,85%ige Kochsalzlösung 5,6.

B. Kobragift 0,7 + $^n/_1$-NaOH 0,35 + Kochsalzlösung 5,6.

C. Kobragift 0,7 + Kochsalzlösung 6,3.

Nachdem die Gemische 1 St. im Dunkeln bei Zimmertemperatur gestanden haben, wird A und B mit entsprechenden Mengen Normallauge resp. -säure neutralisiert. Prüfung mit Ziegenblut 1,0 5%ig, und zwar unter Zusatz von 0,3 $^1/_{100}$ Lecithol 10%ig in Methylalkohol resp. 0,1 Meerschweinchenserum.

[1]) Das verschiedenartige Verhalten der Thermolabilität normaler und künstlicher Amboceptoren ist ein wichtiges Argument für das auf diesem Gebiet herrschende Pluralitätsprinzip, wie es neuerdings durch P. Th. Müller auf Grund sorgfältiger Versuche wieder betont wird.

Nach 2stündigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37° und 20stündigem bei ca. 8° wird zu den Reihen A und B (Serum) je 0,1 $^1/_{10}$ Kobragift zugefügt[1]); es tritt überall komplette Hämolyse ein.

Kobragiftmenge	A		B		C	
	Lecithin	Serum	Lecithin	Serum	Lecithin	Serum
1,0 $^1/_{10}$	komplett	sehr wenig	komplett	sehr wenig	komplett	komplett
0.5	„	Spur, Kuppe	„	Spur, Kuppe	„	„
0,25	„	Spürchen, Kuppe	„	Spürchen, Kuppe	„	„
1,0 $^1/_{100}$	„	„	„	„	„	„
0,5	„	„	„	„	„	„
0,25	„	„	f. kompl.	„	„	stark
1,0 $^1/_{1000}$	„	„	wenig	„	„	wenig mäßig
0,5	f. kompl.	—	Spürchen, Kuppe	—	f. kompl.	—
0,25	mäßig	—	0	—	mäßig	—
0	0	Spürchen, Kuppe	0	Spürchen, Kuppe		Spürchen, Kuppe

Es geht aus dem Versuche hervor, daß der Amboceptor auch bei Zimmertemperatur in relativ kurzer Zeit sowohl durch Säure wie durch Alkali eine erhebliche Abschwächung erfährt, während entsprechend älteren Erfahrungen das Prolecithid gegen Säure völlig resistent ist; durch Alkali wird es weit weniger als der Amboceptor abgeschwächt. Dieser erfährt bei der gewählten Versuchsanordnung (ca. $^1/_{20}$ Säure resp. Lauge in 1 St. bei Zimmertemperatur) eine Verminderung um mindestens das 100fache seines ursprünglichen Wertes. Es ist klar, daß man durch etwas längere Einwirkung der Säure auch bei niedriger Temperatur in der Lage sein wird, eine vollständige Trennung von Amboceptor und Prolecithid unter Erhaltung des letzteren durchzuführen. Der Erwärmungsversuch mit Säure, der in folgender Tabelle enthalten ist, zeigt das Verhalten, wie wir es schon früher, ohne ein Beispiel mitzuteilen, geschildert haben, während aus dem entsprechenden Versuch mit Alkali sich ergibt, daß beide Faktoren bei höherer Temperatur rasch zerstört werden.

V.

A. Kobragift 1%ig in 0,85%iger Kochsalzlösung 6,0 $^1/_{10}$ + $^n/_1$-HCl 0,3.
B. Kobragift 1%ig 6,0 $^1/_{10}$ + $^n/_1$-NaOH 0,3.

Beide Gemische werden in Reagensgläsern mit Steigrohr 1 St. im kochenden Wasserbad erhitzt, nach dem Erkalten wird mit Normal-

[1]) Dieser nachträgliche Versuch zeigt, daß nach Inaktivierung des Amboceptors auch die Komplementzerstörende Fähigkeit des Kobragifts wirksam geworden ist, auf welche später noch einzugehen ist.

lösungen neutralisiert. Zur Kontrolle dient eine entsprechende unbehandelte Kobragiftlösung = C. Hämolytischer Versuch mit 1,0 Ziegenblut 5%ig und 0,3 $^1/_{400}$ Lecithol 10%ig resp. 0,1 Meerschweinchenserum.

Kobragiftmenge	A		B		C	
	Lecithin	Serum	Lecithin	Serum	Lecithin	Serum
1,0 $^1/_{10}$(ca.)	komplett	0	0	0	komplett	komplett
0,5	„	0	0	0	„	„
0,25	„	0	0	0	„	„
1,0 $^1/_{100}$	„	0	0	0	„	„
0,5	„	0	0	0	„	„
0,25	„	0	0	0	„	stark
0,1	mäßig	0	0	0	mäßig	wenig
0	0	0	0	0	0	0

Nach 22 St. wird zu den mit Serum versetzten Röhrchen der Reihe A und B, in denen ja keine Hämolyse stattgefunden hat, folgender Zusatz gemacht: Zu A je 0,1 $^1/_{10}$ eines Amboceptors (Ziegen-Kaninchen, lösende Dosis 0,1 $^1/_{100}$), zu B je 0,1 $^1/_{10}$ Kobragift. Nach 2 St. bei 37° ist überall komplette Hämolyse eingetreten. Entsprechende Kontrollen ohne Meerschweinchenserum 0.[1])

Es ist bemerkenswert, daß eine Anzahl anderer Schlangengifte, die wir untersuchten, nämlich das Gift von Daboia Russelii, Crotalus, Bothrops lanceolatus und Trimeresurus Riukiuanus beim Erhitzen mit Säure sich nicht gleichartig verhalten, vor allem sich weniger resistent erweisen als das bisher ausschließlich untersuchte Kobragift. Mit $^n/_{20}$-Salzsäure 50 Min. im kochenden Wasserbad erhitzt, zeigt das Prolecithid von Daboia eine nicht bedeutende Abschwächung, stärker erscheint sie bei Bothrops und Crotalus und sehr ausgesprochen bei Trimeresurus. Ebenso wie sich also die Prolecithide in ihren spezifischen Eigenschaften, nämlich im Verhalten dem Antitoxin gegenüber, unterscheiden, bestehen offenbar Verschiedenheiten in ihrem Verhalten schädigenden Einflüssen gegenüber.

Trotz der Versuche, die im Sinne einer dualistischen Annahme sprechen, hält Sachs in der angeführten neueren Darstellung die Frage für noch nicht ganz geklärt. Er schließt vor allem die Möglichkeit nicht aus, daß auch im frischen Serum das Lecithin der aktivierende Faktor sei, daß dieses beim Erwärmen auf 56° (hier liegen Analogien mit andersartigen Versuchen von Sachs und Kyes vor) von irgendwelchen Serumbestandteilen gebunden wird, um bei höherem Erwärmen wieder wirksam zu werden. Diese zurückhaltende

[1]) S. Anm. vorige Seite.

Stellungnahme verrät wohl auch den Einfluß einer späteren Auffassung von Kyes, der annimmt, daß vielleicht frische Sera nur indirekt aktivierend wirken, indem sie das in den Blutkörperchen vorhandene Lecithin in einen wirksamen Zustand überführen. Es besteht unseres Erachtens keine Veranlassung, den Beweiswert der von Sachs und Kyes ausgeführten, zuerst von ihnen im dualistischen Sinne gedeuteten Versuche zu bezweifeln, oder gar dieselben als irrelevant anzusehen, indem man eine experimentell fundierte Anschauung aufgibt zugunsten der späteren Annahme von Kyes, die kaum mehr ist als ein bloßes Spiel der Phantasie.

Sachs gibt an derselben Stelle kurz einer Vermutung über das Zustandekommen der Aktivierung von Kobragift durch Meerschweinchenserum Ausdruck, die früher auch für uns manches Verlockende gehabt hätte. Er denkt nämlich an folgende indirekte Wirkung des aktiven Serums. Durch eine ganz geringfügige hämolytische Wirkung, wie sie dem Meerschweinchenserum an und für sich nicht selten zukommt, wird ein kleiner Teil der Blutkörperchen desintegriert und dadurch ein wenig Lecithin verfügbar. Dieses Lecithin beginnt nun einen zunächst geringen Teil des Kobragiftes zu aktivieren, hierdurch weitere Hämolyse, Freiwerden von Lecithin, erneute Aktivierung eines Teiles des Kobragiftes usf. Die Vermutung ist aber nicht haltbar. Durch Erhitzen in saurer Lösung verliert, wie schon früher gezeigt, das Kobragift die Fähigkeit, durch Meerschweinchenserum aktiviert zu werden, die Aktivierbarkeit durch Lecithin bleibt intakt. Wäre die letztere, wie Sachs andeutet, auch für die Serumaktivierung maßgebend, dann wäre dieses Verhalten ausgeschlossen. Dagegen könnten wir uns denken, daß ein Modus, wie ihn Sachs sich vorstellt, bei der Hämolyse gewisser Blutkörperchenarten, die, wie z. B. Kaninchenblut, durch Kobragift ohne Zufügen von Lecithin gelöst werden, mitspielt und daß hier das „disponible Lecithin" nicht in der Zelle zur Wirkung kommt, sondern gradatim durch die anwachsende Hämolyse frei wird und dann erst zunehmende Mengen des Kobragiftes aktiviert.

Flexner und Noguchi[1]) stellten fest, daß die bactericide Kraft normaler Sera durch Schlangengifte aufgehoben

[1]) Journ. of exp. Medicine 6, Nr. 3, März 1902.

wird. Noc[1]) machte dieselbe Beobachtung und erweiterte sie noch dahin, daß auch die hämolytische Wirkung normaler Sera durch Kobragift eine sehr erhebliche Hemmung erfährt; er benutzte Pferdeblutkörperchen und Rattenserum. Nach seiner theoretischen Auffassung findet eine Fixation des Komplements durch das Kobragift statt, die er mit der Komplementbindung durch isolierte Zellen oder Aufschwemmungen von Organzellen vergleicht, eine Auffassung, die durch das vorliegende experimentelle Material nicht als gestützt erscheint.

Unsere eigenen Versuche (l. c.) erstreckten sich auf die Aktivierung immunisatorisch erzeugter Amboceptoren durch Meerschweinchenserum, vor allem aber zeigten sie unter Beachtung des zeitlichen Verlaufes der Vorgänge, daß auch das Komplement des Meerschweinchenserums, das das Kobragift selbst aktiviert, durch längere Digestion mit Kobragift unwirksam gemacht wird. Setzt man z. B. zu Ziegenblutkörperchen zuerst Kobragift zu und weiterhin Meerschweinchenserum, so wirkt das letztere als Aktivator (Komplement), und es tritt Hämolyse ein. Mischt man dagegen zuerst die Kobragiftlösung mit dem Serum und läßt das Gemisch einige Zeit stehen, bevor man Blutkörperchen zusetzt, so bleibt die Hämolyse aus, und zwar deshalb, weil der Aktivator des Serums unwirksam geworden ist; ein weiterer Zusatz von frischem Serum führt zur Hämolyse, zeigt also, daß das Kobragift an sich wirksam geblieben ist. Wir hatten die Priorität der genannten Autoren bezüglich des Grundprinzips dieser Erscheinung leider übersehen, als wir unsere ersten Beobachtungen in dieser Richtung mitteilten.

Es möge hier zunächst noch ein neuerer Versuch folgen, der die Komplementzerstörung durch Kobragift veranschaulicht und zugleich im Anschluß an unsere früheren Mitteilungen einen Einblick in den zeitlichen Verlauf des Vorganges gewährt. Das Maximum der komplementzerstörenden Wirkung ist bei Brutschranktemperatur von 37° nach etwa 3 St. erreicht; die Quantitäten Kobragift, die nach 3 St. keine vollständige Zerstörung der angewandten konstanten Komplementmenge mehr hervorbringen, zeigen auch nach Verlauf einer weiteren Stunde keine oder nur eine sehr gering fortschreitende Wirkung.

[1]) Annales de l'Inst. Pasteur 19, 1905.

VI.

Kobragift 1% in 0,85%iger Kochsalzlösung. Meerschweinchenserum 0,1 ccm; Ziegenblut, 2mal gewaschen, 1 ccm.

A. Gift + Meerschweinchenserum bleiben 3 St. bei 37°, dann Blut zugesetzt.

B. Gift + Meerschweinchenserum bleiben 4 St. bei 37°.

C. Gift + Meerschweinchenserum + Blut gleichzeitig gemischt.

Mengen des Kobragiftes	Hämolyse		
	A	B	C
1. 1,0 1/100	0	0	komplett
2. 0,5	0	0	„
3. 0,25	sehr wenig	sehr wenig	„
4. 0,1	wenig mäßig	wenig	stark
5. 0	fast 0	fast 0	fast 0
6. 00	0	0	0

Die quantitativen Verhältnisse, wie sie bei diesem Vorgang obwalten, erinnern durchaus an diejenigen, die bei dem Phänomen der Komplementablenkung im Sinne von Neißer-Wechsberg zu beobachten sind. Hier wie dort macht eine größere Menge des „Amboceptors" eine Komplementmenge unwirksam, die mit kleineren Amboceptormengen ein wirksames System gibt. Nun ist aber die Deutung der vorliegenden Versuchsergebnisse als auf Bindung von Komplement durch überschüssigen Amboceptor beruhend nicht aufrechtzuerhalten, so daß — abgesehen von dem eigenartigen zeitlichen Verlauf — eine Annäherung der hier beobachteten Erscheinungen an jene übrigens kaum haltbare Kategorie nicht versucht werden darf.

Daß die hier als Zerstörung bezeichnete Inaktivierung des Komplements auf einer gegenseitigen Bindung zwischen der hämolytischen Komponente des Kobragiftes und dem Komplement, etwa mit nachfolgender Umlagerung beruhen könne, diese Möglichkeit ist nicht abzuweisen, aber ebensowenig wie andere Eventualitäten auf Grund des vorliegenden experimentellen Materials ernsthaft zu diskutieren. Wenn man bedenkt, daß längere Digestion von Kobragift und Lecithin die Hämolyse in keiner Weise hemmt, im Gegenteil, ihren zeitlichen Ablauf außerordentlich beschleunigt, so liegt hier zweifellos eine Tatsache vor, die nur im dualistischen Sinne aufgefaßt werden kann. Daß hier ein echtes Komplement der Zerstörung unterliegt, dafür spricht vor allem der Umstand, daß gleich-

zeitig die komplettierende Wirkung des Meerschweinchenserums für einen immunisatorisch erzeugten hämolytischen Amboceptor erlischt. Mag ein einheitliches Komplement vorliegen, das zugleich Kobragift und diesen Amboceptor zu aktivieren vermag, oder will man die Annahme nicht ausschließen, daß hier zwei verschiedene Komplemente in Betracht kommen, unter allen Umständen fällt dieser Parallelismus dafür in die Wagschale, daß es sich bei der Aktivierung des Kobragiftes durch frisches Serum um ein echtes Komplement handelt.

Wir hatten bei Gelegenheit dieser Versuche eine weitere, im gleichen Sinne zu verwendende Beobachtung gemacht. Kyes und Sachs hatten schon festgestellt, und der eine von uns später vielfach bestätigt, daß langdauerndes Erhitzen auf 100° in saurer Lösung dem Kobragift nichts von seiner Fähigkeit nimmt, durch Lecithin aktiviert zu werden. Als wir nun derartig präpariertes Kobragift durch frisches Meerschweinchenserum aktivieren wollten, zeigte es sich, daß es analog dem Verhalten gegen Säuren und Alkalien ohne Erwärmen vollständig wirkungslos blieb.

Wir lassen noch die Schilderung eines Versuchs folgen, an den sich Beobachtungen über das Verhalten der komplementzerstörenden Wirkung des Kobragifts anschließen.

VII.

Einstellung des nativen Kobragiftes 1%ig in 0,85%iger Kochsalzlösung auf Ziegenblut (5%ig 1,0 ccm) mit je 0,2 ccm Meerschweinchenserum als Komplement.

Kobragift	
$0{,}5\,{}^{1}/_{100}$	komplett
0,25	„
0,1	stark
0	0

Es werden nun 6,0 ccm der Verdünnung 1:10 des Kobragiftes mit 0,3 ccm ${}^{n}/_{1}$-HCl (Gesamtgehalt also etwas weniger als ${}^{n}/_{20}$-HCl) 1 Stunde in einem mit Steigrohr versehenen verschlossenen Reagensglas im kochenden Wasserbad erhitzt, dann wird abgekühlt und mit ${}^{n}/_{1}$-NaOH neutralisiert. Die Prüfung auf Hämolyse mit Zusatz von je 0,2 ccm Meerschweinchenserum ergab bei absteigenden Mengen Kobragift von 0,5 ccm der 1%igen Lösung 1:10 bis 0,1 ccm, 1:100 keine Spur von Hämolyse (Reihe A). Also das 20fache derjenigen Kobragiftmenge, die vor dem Erhitzen bei Aktivierung mit Meerschweinchenserum noch vollkommene Hämolyse ergab, blieb wirkungslos. Dagegen zeigt die folgende Tabelle das Erhaltenbleiben der Hämolyse bei Lecithinaktivierung. Zur Aktivierung

dient 0,3 ccm einer Verdünnung 1:400 der 10%igen Lecithollösung in Methylalkohol (Reihe B).

Kobragift	
0,25	komplett
$1{,}0\ ^1/_{10}$ (= $^1/_{100}$ der Stammlösung)	„
0,5	„
0,25	stark
$1{,}0\ ^1/_{100}$ (= $^1/_{1000}$)	mäßig
0,5	wenig
0,25	Spur
0,1	0
0	0
00	0

Daß, wie schon früher festgestellt, das Komplement des Meerschweinchenserums durch das erhitzte Kobragift nicht mehr geschädigt wird, ergab ein weiterer Versuch mit Reihe A. Nach 2stündigem Verweilen derselben bei 37° und 20stündigem Stehen im Eisschrank wurde überall ein Vielfaches der lösenden Dosis eines vom Kaninchen gewonnenen Ziegenblutambocceptors zugefügt. Nach kurzem Verbleib im Brutschrank hatte das Meerschweinchenserum + Amboceptor vollständige Hämolyse herbeigeführt.

Ein zweiter Versuch, bei dem das Erhitzen der angesäuerten Kobragiftlösung nur 10 Minuten währte, verlief ebenso, so daß sich eine Mitteilung in extenso erübrigt.

Es geht aus all dem hervor, daß wir durchaus genügend Veranlassung haben, daran festzuhalten, daß bei der Kobragifthämolyse sowohl ein Komplement wie auch Lecithin als Aktivator auftreten können. Allerdings darf unser Befund, wie wir schon früher bemerkt haben, nicht ohne weiteres so gedeutet werden, daß im Kobragift für jede der beiden Aktivierungen ein besonderes Substrat vorhanden sei. Es ist denkbar, daß eine einheitliche Substanz durch das Erhitzen in saurer Lösung ihre Aktivierbarkeit durch Komplement, also ihre Amboceptoreigenschaft sensu strictiori, verliert, während sie zur Aktivierung durch Lecithin, also zur Lecithidbildung geeignet bleibt. Dieselbe Reserve muß gegenüber den Differenzen bei Alkali-, Säure- und Papainbehandlung gewahrt werden. Die Feststellung von Sachs und Kyes, daß Cholesterin die Hämolyse durch Lecithinaktivierung hemmt, dagegen nicht die Hämolyse durch Serumaktivierung, ist zwar, wie schon oben erwähnt, insofern im dualistischen Sinne zu verwerten, als auch sie zeigt, daß die Lecithinaktivierung und die Serumaktivierung zweierlei ist; dagegen lassen sich bis auf weiteres Schlüsse auf die im

Kobragift enthaltenen Substanzen nicht daraus ziehen. Minz[1]) hat unter Leitung des einen von uns die Analyse der hier in Betracht kommenden Vorgänge etwas weiter getrieben und gezeigt, daß durch Cholesterin das Prolecithid des Kobragiftes, das Lecithid und auch das Lecithin allein aufgenommen werden. Die Möglichkeit, das Prolecithid auf diese Weise (durch Bindung und Abzentrifugieren der Cholesterinflocken) aus der Lösung zu entfernen, läßt den Weg offen erscheinen, zur Abtrennung des durch Lecithin aktivierbaren Prolecithids von einem etwa gesondert vorhandenen, durch Serumkomplement aktivierbaren Amboceptor zu gelangen.

Wir hofften, die Frage vielleicht dadurch entscheiden zu können, daß wir die Antitoxinwirkung bei beiden Arten der Aktivierung feststellten; erheblichen Differenzen derselben bei beiden Arten der Aktivierung wäre eine gewisse Bedeutung zuzumessen.

Das Antitoxin wurde uns in liebenswürdigster Weise von Herrn Prof. Calmette zur Verfügung gestellt.

Das Kobragift war 1%ig in 0,85%iger Kochsalzlösung gelöst. Das Lecithol 10%ig in Methylalkohol. Im Antitoxinversuch wurde zunächst Calmettesches Serum und Kobragift gemischt und dann nach 1stündigem Verweilen bei 37° Lecithin resp. Meerschweinchenserum und je 1 ccm 1%iges gewaschenes Ziegenblut zugefügt. Die Einstellung des Kobragiftes geschah unter Anwendung derselben Menge von Lecithin und Meerschweinchenserum, die nachher zum Antitoxinversuch verwendet wurden.

Die Kobragiftmenge, die zur Hämolyse notwendig ist, zeigt für beide Aktivierungsarten nur eine kleine Differenz zugunsten des Versuchs mit Meerschweinchenserum, die um so weniger bedeutsam erscheint, als sie wohl auf die geringe Hämolyse zurückzuführen ist, die das Meerschweinchenserum an und für sich hervorbringt. Die Menge des Kobragiftes im Antitoxinversuch beträgt in beiden Fällen etwas mehr als das Vierfache der komplett lösenden Dosis. Die hemmende Wirkung des Antitoxins erscheint, wenn man den Nullpunkt, die komplette Lösung oder eine Zwischenstufe zum Maßstabe nimmt, bei der Lecithinaktivierung etwa doppelt so stark wie bei Aktivierung mit Meerschweinchenserum.

Wir glauben nicht, daß diese Differenz zugunsten der dualistischen Anschauung ohne weiteres benutzt werden darf, dies um so weniger, als für beide Fälle Differenzen des Mediums

---

[1]) Minz, diese Zeitschr. 9, 358, 1908.

bestehen, die von Einfluß sein können. Man muß auf Grund dieser Versuche zu dem Schluß kommen, daß die Antitoxinwirkung für beide Fälle zwar nicht die gleiche, aber doch von ähnlicher Größenordnung ist, so daß sie zur Entscheidung über die hier diskutierte Frage nicht herangezogen werden kann.

Bei Gelegenheit dieser Antitoxinversuche lag es nahe, zu untersuchen, ob auch die komplementzerstörende Wirkung des Kobragiftes durch das Calmettesche Serum gehemmt wird. Der folgende, ausführlich geschilderte Versuch zeigt, daß dies tatsächlich der Fall ist. Ob die Aufhebung der Komplementwirkung durch eine der hämolytischen Substanzen des Cobragiftes oder durch ein eigenes Enzym (dem also im Calmetteschen Serum ein Antienzym gegenüberstände) hervorgebracht wird, dies zu entscheiden, liefert natürlich auch der vorliegende Versuch keine Handhabe.

VIII.

Ziegenblut 5%ig, 2mal gewaschen, 1 ccm.
Kobragift 1%ig, in 0,85%iger Kochsalzlösung.
Meerschweinchenserum 0,1 5 ccm, Amboceptor Ziegenblutkaninchen.
A Calmettesches Serum in absteigenden Dosen + Cobragift je 0,15 ccm $^1/_{10}$ wird $^1/_2$ St. bei 37° gehalten, dann Meerschweinchenserum + Blut zugefügt.
B Calmettesches Serum in absteigenden Dosen + Cobragift je 0,15 ccm $^1/_{10}$ wird $^1/_2$ St. bei 37° gehalten, dann Meerschweinchenserum hinzugefügt, 3 St. bei 37° gehalten, dann Amboceptor (Ziegenblutkaninchen) 0,1 $^1/_{10}$ und Blut hinzugefügt.

Mengen des Calmetteschen Serums	Hämolyse	
	A	B
1. 1,0	0	komplett
2. 0,5	0	„
3. 0,25	0	mäßig stark
4. 1,0 $^1/_{10}$	sehr wenig	stark
5. 0,5	mäßig stark	mäßig
6. 0,25	komplett	sehr wenig
7. 0	„	„ „
8. 00 (Meerschweinchenserum allein)	Spur, Kuppe	—
9. 000	0	—

Kontrollversuche mit Kobragift.

I Absteigende Mengen Kobragift + Meerschweinchenserum 0,15 + Blut, rasch gemischt.
II Absteigende Mengen Kobragift + Meerschweinchenserum 0,15 werden 3 St. im Brutschrank bei 37° gehalten, dann Blut zugesetzt.

III Absteigende Mengen Kobragift + Meerschweinchenserum 0,15 werden 3 St. bei 37° gehalten, dann Amboceptor 0,1 $^1/_{10}$ und Blut zugefügt.

IV Erst Meerschweinchenserum allein 3 St. bei 37°, dann Kobragift in absteigenden Mengen und Blut zugesetzt.

Mengen von Kobragift	Hämolyse			
	I	II	III	IV
1. 0,15 $^1/_{10}$	—	0	sehr wenig	—
2. 1,0 $^1/_{100}$	komplett	0	wenig mäßig	komplett
3. 0,5	„	0	mäßig stark	„
4. 0,25	„	sehr wenig	fast komplett	„
5. 0,1	mäßig stark	mäßig	komplett	mäßig stark
6. 0	Spur, Kuppe	—	—	—
7. 00	0	—	—	—

Kontrollversuche mit Amboceptor.

Mengen des Amboceptors	Meerschweinchenserum 0,15 + Blut gleichzeitig gemischt	Erst Meerschweinchenserum allein 3 St. bei 37°, dann Amboceptor + Blut zugesetzt
1. 1,0 $^1/_{100}$	komplett	komplett
2. 0,5	„	„
3. 0,25	„	„
4. 1,0 $^1/_{1000}$	fast komplett	fast komplett
5. 0,5	wenig mäßig	—
6. 0	Spur, Kuppe	Spur, Kuppe
7. 00	0	0

Aus dem Versuch geht hervor, daß durch spezifisches Immunserum nicht nur die hämolytische Wirkung des Kobragiftes (bei Aktivierung durch Komplement), sondern auch in gleichem Maße seine komplementzerstörende Wirkung aufgehoben wird. Betrachtet man in den Reihen A und B der Tabelle die zusammengehörigen Versuche, so sieht man, daß bei den größten Serummengen sowohl die hämolytische wie die komplementzerstörende Wirkung des Kobragiftes ausbleibt; auf einen engen Parallelismus der Serumwirkung für beide Fälle weist Horizontalreihe 6 hin, die zeigt, daß die hemmende Wirkung des Calmetteschen Serums sowohl gegenüber der hämolytischen wie gegenüber der komplementzerstörenden Wirkung des Kobragiftes bei derselben geringsten Serumdosis aufhört. Es wird mehr oder weniger vom glücklichen oder geschickten Fund eines geeigneten Verfahrens abhängen, ob es gelingt, die Verschiedenheit der als Amboceptor fungierenden und der komplementzerstörenden Substanz des

Kobragiftes zu erweisen. Ähnliches oder selbst identisches Verhalten[1]) läßt immer noch die Möglichkeit offen, daß es sich um zwei Funktionen einer und derselben Substanz handelt, der Schluß auf ein einheitliches Substrat ist selbst nach vielfach variierten Versuchen kaum jemals mit höherer Wahrscheinlichkeit zu ziehen. Immerhin erscheint es uns bemerkenswert genug, daß alle unsere auf eine Trennung gerichteten Versuche ergebnislos verlaufen sind, und daß wir jederzeit einen Parallelismus zwischen dem Verhalten des hämolytischen Amboceptors des Kobragiftes und dem der komplementzerstörenden Substanz beobachtet haben.

Wir geben aus unseren zahlreichen Versuchen im folgenden einen Versuch ausführlich wieder, der das entsprechende Verhalten beider Funktionen des Kobragiftes thermischen Einflüssen gegenüber zeigt. Während $^1/_2$ stündiges Erwärmen der Lösung des Kobragiftes auf 50° beide Funktionen unbeeinflußt läßt, sehen wir sie nach Erwärmen auf 70° und 80° gleichzeitig geschwunden.

IX.

Ziegenblut 5%, 2mal gewaschen, 1 ccm, Kobragift 1% in 0,85%iger Kochsalzlösung, Meerschweinchenserum 0,1.

A Gift + Meerschweinchenserum + Blut gleichzeitig gemischt.

B Gift + Meerschweinchenserum bleiben 3 St. bei 37°, dann Blut zugesetzt.

C Am nächsten Morgen zu B je Kobragift 0,1 $^1/_{10}$ zugesetzt, dann 2 St. bei 37° gehalten. Nur zu B von nicht erhitztem Kobragift wurde anstatt des Kobragiftes Meerschweinchenserum je 0,15 zugesetzt.

Mengen von Kobragift	Hämolyse											
	Kobragift, nativ			Kobragift ($^1/_{10}$-Lös.) auf 50° $^1/_2$ St. erhitzt			Kobragift ($^1/_{10}$-Lös.) auf 70° $^1/_2$ St. erhitzt			Kobragift ($^1/_{10}$-Lös.) auf 80° $^1/_2$ St. erhitzt		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
1. 0,5 $^1/_{10}$	—	—	—	—	—	—	0	0	kompl.	0	0	kompl.
2. 0,25	kompl.	0	kompl.	kompl.	0	0	0	0	„	0	0	„
3. 1,0 $^1/_{100}$	„	0	„	„	0	0	0	0	„	0	0	„
4. 0,5	„	0	„	„	0	fast 0	0	0	„	0	0	„
5. 0,25	stark	wenig	„	stark	sehr wenig	wenig	0	0	„	0	0	„
6. 0,1	wenig	wenig	fast kompl.	wenig	wenig mäßig	kompl.	0	0	„	0	0	„
7. 0	0	mäßig	0	0	0	„	0	0	„	0	0	„
8. 00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

[1]) S. Anm. S. 93 und 94.

Nach $^1/_2$ stündigem Erwärmen auf 60° erscheinen beide Wirkungen nur abgeschwächt, und zwar etwa in gleichem Maße, wie der folgende Versuch zeigt:

X.

Ziegenblut 5%, 2mal gewaschen, 1 ccm.
Kobragift 1% in 0,85%iger Kochsalzlösung.
Meerschweinchenserum 0,15.
A Gift + Meerschweinchenserum + Blut gleichzeitig gemischt.
B Gift + Meerschweinchenserum werden 3 St. bei 37° gehalten, dann Blut zugefügt.

Mengen von Kobragift	Hämolyse			
	Natives Kobragift		auf 60° $^1/_2$ St. erhitztes Kobragift (in $^1/_{10}$-Lös.)	
	A	B	A	B
1. 0,2 $^1/_{10}$	komplett	—	komplett	fast 0
2. 1,0 $^1/_{100}$	„	0	„	wenig
3. 0,5	„	sehr wenig	fast ganz komplett	mäßig
4. 0,25	fast ganz komplett	mäßig	stark	mäßig stark
5. 0,1	stark	mäßig stark	mäßig	mäßig
6. 0	Spürchen, Kuppe	Spürchen, Kuppe	Spürchen, Kuppe	Spürchen, Kuppe
7. 00	0	0	0	0

Auch bei weiteren Versuchen — bei Zerstörung durch Säure und Alkali — war ein ausgesprochener Parallelismus in der Verminderung beider Funktionen zu beobachten.

Die komplementzerstörende Wirkung von Crotalus- und Bothropsgift verläuft, wie orientierende Versuche zeigten, rascher als die durch Kobragift. Die hämolytische Wirkung dieser Gifte ist bei Komplementaktivierung schwächer. Hier muß natürlich daran gedacht werden, daß die Aktivierbarkeit durch Komplement als Resultante der beiden Faktoren, des „Amboceptor"gehalts und des „komplementzerstörenden Agens", erscheint. Sie kann also nicht ohne weiteres als Maßstab für die Stärke (oder Menge) des „Amboceptors" im Kobragift genommen werden. Dies wäre erst dann erlaubt, wenn es möglich wäre, den komplementzerstörenden Faktor isoliert auszuschalten.

II. Die Beziehungen des Kobragiftes zu den roten Blutkörperchen.

Kyes wandte die Amboceptortheorie auf die Beziehungen zwischen Blutkörperchen, Kobragift und Lecithin an, nachdem, wie bereits gesagt, Flexner und Noguchi für die Serumaktivierung der Schlangengifte die nämliche Analogie in Anspruch genommen hatten.

Mit dieser theoretischen Auffassung hängt auf das engste die Frage zusammen, die uns hier beschäftigt, nämlich die Frage nach den Beziehungen zwischen den hämolytischen Komponenten der Schlangengifte und den Erythrocyten. Findet hier eine Bindung statt, wie sie für die Amboceptoren des Serums typisch ist? Wir sind dieser Frage in sehr zahlreichen Versuchen nachgegangen.

Was an Angaben bei Beginn unserer Untersuchungen vorlag, das war nicht sehr reichlich, dafür aber um so widerspruchsvoller. Flexner und Noguchi stellten die ersten Versuche über die Bindung der von ihnen in Schlangengiften aufgefundenen hämolytischen „Amboceptoren", die durch frisches Serum als Komplement aktiviert wurden, an Erythrocyten an. Ihre Mitteilungen sind summarisch und enthalten keine quantitativen Angaben. Die Versuche sind wohl zum Teil mit Crotalusgift angestellt, ein Versuch bezieht sich, wie angegeben, auf das Gift von Ancistrodon piscivorus. Die Resultate waren folgende:

„Venom solution treated with dog, rabbit and guinea pig washed corpuscles in succession gives up to each a part of its intermediary bodies.[1]) Water mocassin venom was deprived of its entire haemolytic action for the cells of the sheep, the dog and the rat, respectively by keeping these cells in contact with 1% solution of the venom in the cold (0° C) for 3 hours."

---

[1]) Die Verfasser wollen hier auf eine Mehrheit von Amboceptoren — jeder einer bestimmten Blutkörperchenart entsprechend — hinweisen. Derartige Versuche, wo alles auf die quantitativen Verhältnisse ankommt, sind nur auf Grund zahlenmäßiger Angaben zu beurteilen; Aus dem folgenden ergibt sich wohl zur Genüge, daß die Feststellung einer Vielheit der Schlangengiftamboceptoren auf dem Wege der elektiven Bindung ein vergeblicher Versuch bleiben dürfte.

Im ersten Versuch ist offenbar das Blutkörperchensediment untersucht worden, im zweiten der Defekt des Amboceptors im Abguß geprüft.

Kyes schreibt in seiner ersten Arbeit, gleichfalls ohne nähere Angaben, vom Kobragift (Aktivierung durch Meerschweinchenserum) folgendes:

„Was das Verhalten dem Gift allein gegenüber anbelangt, so kann man in Bestätigung der Angaben von Flexner und Noguchi nachweisen, daß dasselbe von dem durch Kobragift allein nicht lösbaren Hammelblut gebunden wird, doch besitzen die Blutkörperchen nach unseren Erfahrungen, zumal in dünnen Giftlösungen, nur ein relativ geringes Bindungsvermögen. Das Komplement allein wird dagegen von den Blutkörperchen überhaupt nicht fixiert."

„Führt man einen Trennungsversuch aus, indem man Amboceptor und Komplement bei 0° einwirken läßt, und dann Blutkörperchen und Zwischenflüssigkeit durch Zentrifugieren trennt, so konstatiert man, daß die Blutkörperchen einen gewissen Anteil der Amboceptoren aufgenommen haben, nicht aber Komplement."

In derselben Arbeit schreibt Kyes bezüglich der Bindung des Kobragiftes bei nachheriger Aktivierung durch Lecithin: „Wir konstatieren, daß entsprechend der geringen Verwandtschaft des Kobraamboceptors zu den roten Blutkörperchen eine Verankerung des Amboceptors bei geeigneter Versuchsanordnung (2 Stunden bei 0° in dünner Giftlösung) nicht stattfindet." Kyes gibt hierzu ein beweisendes Versuchsprotokoll; es wurde Kobragift bis zum Zwanzigfachen der lösenden Dosis zugefügt.

Des weiteren teilt Kyes einen Versuch mit, dessen theoretische Auffassung uns hier nicht weiter interessiert, aus dem seines Erachtens, wie aus der Abildung und aus dem begleitenden Text zu ersehen ist, die Bindung des Kobragiftamboceptors durch Blutkörperchen auch dann, wenn eine Hämolyse nicht stattfindet, hervorgeht. Er fügt zu 1 ccm 5%igen Kaninchenblutes 1,0 ccm einer 5%igen Lösung von Kobragift. Diese konzentrierte Lösung wirkt nicht hämolytisch, während geringere Mengen des Kobragiftes Kaninchenblutkörperchen schon an und für sich auflösen. Nach 2stündigem Verweilen bei 37°

wird zentrifugiert und gewaschen. Das Sediment ohne weiteren Zusatz bleibt ungelöst, nach Zufügen von 0,5 ccm Meerschweinchenserum oder 0,5 ccm „Meerschweinchenendokomplement" (das später Kyes und Sachs als Lecithin erkennen) tritt komplette Hämolyse ein.

Dieser Versuch darf unseres Erachtens als beweisend für eine Giftbindung an die Blutkörperchen nicht angesehen werden. Nimmt man an, was nach unseren Versuchen statthaft ist, daß die komplett lösende Dosis des Kobragiftes für 1 ccm 5%iger Kaninchenblutaufschwemmung mit 0,15 ccm Meeschweinchenserum $0{,}5^1/_{1000}$ einer 1%igen Lösung beträgt, so entspricht die von Kyes angewandte Menge des Kobragiftes dem 10000-fachen dieser Dosis. Selbst nach dem Waschen der Blutkörperchen kann mehr als eine lösende Dosis des Giftes in der umgebenden Flüssigkeit zurückbleiben, die ohne jede vorherige Bindung durch das nachträglich zugesetzte Komplement (resp. „Endokomplement") wirksam wird.

Nach diesen letzten Mitteilungen von Kyes hat sich derselbe offenbar auf Grund weiterer Untersuchungen in seinen Anschauungen von Flexner und Noguchi entfernt und ist zu der Auffassung gelangt, daß wenigstens aus verdünnten Giftlösungen eine Verankerung des Amboceptors des Kobragiftes an die Blutkörperchen nicht stattfindet. Aber er vindiziert dem Amboceptor wenigstens eine geringe Verwandtschaft zu den Blutkörperchen, die also die Möglichkeit einer Bindung, etwa bei Anwendung konzentrierter Lösungen, noch zuläßt.

Zu eindeutigen Resultaten gelangte in einer sehr sorgfältigen Arbeit Lamb. Er benutzte verschiedene Blutarten sowie verschiedene Schlangengifte und aktivierte sowohl mit Lecithin als mit Hundeserum. Er wandte bis zum Zwanzigfachen der lösenden Dosis der Gifte an, digerierte 1 Stunde bei 37° und wusch die Blutkörperchen nachher sechsmal mit Kochsalzlösung. Daß beim Waschen schon gebundenes Gift von den Blutkörperchen wieder abgegeben wird, glaubt er damit ausschließen zu können, daß bei Bindungsversuchen mit der einfachen lösenden Dosis dieses vollständig im ersten Abguß erscheint.

Dieser letztere mögliche, vom Lamb klar erkannte Einwand, daß an die Waschflüssigkeit von den Blutkörperchen ge-

bundenes Gift wieder abgegeben werden kann, wurde von uns besonders berücksichtigt. Das Gesamtresultat dieser Versuche ist jedenfalls dies, daß in den mannigfachen von ihm versuchten Kombinationen eine Bindung der Schlangengifthämolysine (Amboceptoren, Prolecithide) an die Blutkörperchen nicht stattfindet. Nach Abschluß unserer Versuche erschien eine Mitteilung von v. Dungern und Coca[1]), die zu unseren Resultaten in völligem Gegensatz stand. Derjenige hämolytische Anteil des Kobragiftes, der durch Serumkomplement aktiviert wird, sollte nach Art eines Amboceptors von den Blutkörperchen gebunden werden, der durch Lecithin aktivierbare Anteil nicht. Nach unseren Versuchen wird, wie wir bereits kurz mitgeteilt haben (l. c.) und wie aus den hier ausführlich wiedergegebenen Protokollen hervorgeht, weder der eine noch der andere gebunden. Eine spezielle Kritik der Mitteilung von v. Dungern und Coca bleibt uns erspart, da H. Sachs[2]) in einer Nachprüfung die Angaben der beiden Autoren nicht bestätigen konnte und im Anschluß an diese Resultate die Frage eingehend bespricht. Wertvoll ist die Angabe von Sachs, daß die Blutzellen selbst aus dem 2000fachen der lösenden Dosis des Kobragiftes noch nicht so viel aufnehmen, um nach Lecithinzusatz vollständig gelöst zu werden. Die von Sachs angewandten Mengen Kobragift gehen noch weit über die unserigen hinaus, was die Beweiskraft der Versuche nur noch erhöht.

Von Dungern und Coca[3]) halten in einer weiteren Mitteilung ihre ersten Angaben Sachs gegenüber nicht mehr unbedingt aufrecht und gelangen zu Anschauungen, die mit ihrer Lipasetheorie der Kobragifthämolyse zusammenhängen, auf die wir hier nicht eingehen können; sie soll demnächst an anderer Stelle besprochen werden.

Unsere eigenen Bindungsversuche sind angestellt, indem wir einerseits mit Lecithin, andererseits mit frischem Meerschweinchenserum aktivierten.

Das zu den Versuchen verwendete Ziegenblut und Kaninchenblut wurde stets in 5%iger Aufschwemmung zweimal gewaschen; es wurde

[1]) Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 47.

[2]) Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 9.

[3]) Diese Zeitschr. 12, 407, 1908.

je 1 ccm dieser Aufschwemmung benutzt. Die Gemische von Blut und Kobragift blieben unter öfterem Schütteln 1 bis 2 Stunden im Brutschrank bei 37°, hierauf wurde zentrifugiert und gewaschen. Die Hämolyse wurde nach 2stündigem Verweilen der Proben im Brutschrank und weiterer Einstellung in den Eisschrank bis zum nächsten Vormittag bestimmt.

Ein erster vorläufiger Versuch, bei dem das 4fache der lösenden Dosis des Kobragiftes zur Anwendung kam, zeigte, daß sicher unter den gewählten Versuchsbedingungen keine nennenswerte Bindung stattfindet. Wir haben bei diesem Versuch mit Absicht ein Waschen des Blutkörperchensediments unterlassen, um dem möglichen Einwand aus dem Wege zu gehen, daß bereits gebundenes Hämolysin an die Waschflüssigkeit wieder abgegeben würde. An dem Ausschlag des Versuches ändert dies nichts, da er zeigt, daß die typische Amboceptorbindung, die bei Anwendung des 4fachen der lösenden Dosis des Kobragiftes zur kompletten Hämolyse des Sediments hätte führen müssen, nicht stattgefunden hat.

I.

Ziegenblut 5%ig, zweimal gewaschen, Kobragift 1%ig in 0,85%iger Kochsalzlösung ohne Glycerin. 9 Reagensgläser werden mit je 1,0 ccm der Blutaufschwemmung und 0,2 ccm $^1/_{10}$ Kobragift beschickt. Die Menge des Kobragiftes entspricht nach der gleichzeitig vorgenommenen Einstellung mit je 0,15 ccm Meerschweinchenserum dem 4fachen der lösenden Dosis. Die Gemische bleiben 2 Stunden im Brutschrank bei 37°, dann wird zentrifugiert und die Flüssigkeit abgegossen. Die Sedimente werden ohne vorheriges Waschen auf 2,0 ccm aufgefüllt; zum Abguß werden je 0,5 ccm 10%igen gewaschenen Ziegenbluts zugesetzt. Zu Sediment und Abguß wurden nun wechselnde Mengen Meerschweinchenserum zugefügt. Die Sedimente mit 0,6, 0,3 und 0,5 ccm Meerschweinchenserum erfahren nur ganz geringe Hämolyse, die Abgüsse mit denselben Mengen Meerschweinchenserum lösen komplett. In Kontrollversuchen aktivieren 0,15 ccm Meerschweinchenserum gerade noch die angewandte Giftmenge, das Meerschweinchenserum in den verwendeten Dosen wirkt an und für sich nicht hämolytisch.

Wir ließen nun mit derselben Blutart einen zweiten Versuch folgen, bei dem wir eine sorgfältige nochmalige Waschung des Blutkörperchensediments vornahmen, uns aber gegen den oben erwähnten Einwand dadurch sicherten, daß wir auch den Hämolysingehalt der Zwischenflüssigkeit untersuchten, um einen etwaigen Defekt festzustellen, der einer Bindung des Hämolysins durch die Blutkörperchen entspräche.

Wir führten in genau gleicher Weise einen Parallelversuch durch, in dem die Aktivierung durch Lecithin stattfand. Der Vergleich ist lehrreich; er zeigt, daß in beiden Fällen eine Bindung nicht zum Ausdruck kommt. Auf die Bindungsverhältnisse bei Anwendung von Lecithin als Aktivator kommen wir später bei Besprechung der besonders hierauf gerichteten Versuche nochmals zurück.

II.

1. Einstellung des Kobragiftes (1%ig in 0,85%iger Kochsalzlösung) auf Ziegenblut 5%ig, 2mal gewaschen 1,0 ccm. A mit 0,2 ccm Lecithol in Methylalkohol 5%ig $^1/_{200}$, B mit 0,15 ccm frischem Meerschweinchenserum.

Mengen des Kobragiftes	A	B
0,2 $^1/_{10}$	komplett	komplett
1,0 $^1/_{100}$	„	„
0,5	„	„
0,25	mäßig	mäßig
0	0	0

2. Bindungsversuch. Material und Mengen wie oben. Blut + Kobragift bleiben 2 St. bei 37° im Brutschrank. Zentrifugiert, abgegossen, Sediment 2mal mit je 10 ccm Kochsalzlösung gewaschen, auf 1 ccm aufgefüllt, dann Lecithin resp. Meerschweinchenserum. Gesamtvolum 2,0. Zum Abguß je 0,25 ccm 20%iges gewaschenes Ziegenblut, dann Lecithin resp. Meerschweinchenserum. Gesamtvolum etwas mehr als 2,0 ccm. A mit Lecithin, B mit Meerschweinchenserum.[1])

Mengen des zur Bindung zugefügten Kobragiftes	Sediment A	Sediment B	Abguß A	Abguß B
0,2 $^1/_{10}$ = 4 × lös. Dos.	0	Spur, Kuppe	komplett	komplett
1,0 $^1/_{100}$ = 2 × „ „	0	„ „	„	„
0,5 $^1/_{100}$ = 1 × „ „	0	„ „	„	„
0	0	„ „	0	Spur, Kuppe

Um uns der gleichen Blutart zu bedienen, die von Dungern und Coca bei ihren abweichenden Versuchen benutzt hatten, stellten wir weitere Versuche mit Rinderblut an. Im ganzen wurden je 4 Versuche, sowohl mit Serum- wie mit Lecithinaktivierung ausgeführt, wobei das Blut verschiedener Tiere zur Verwendung gelangte — der Erfolg war in jedem Fall der gleiche: es fand keine Bindung statt.

[1]) Es ist von Interesse, daß hier die lösende Dosis des Kobragiftes bei Aktivierung durch Meerschweinchenserum und durch Lecithin dieselbe ist. Sachs findet, daß im letzteren Fallle die Dosis 500mal geringer ist. Derartige Divergenzen dürfen aber auch nicht ohne weiteres im Sinne eines Dualismus in bezug auf die hämolytischen Faktoren des Kobragifts gedeutet werden.

III.

Rinderblut 5%ig, 2mal gewaschen, 1,0 ccm Kobragift 1%ig in Kochsalzlösung. 2 gleiche Parallelreihen.

Mengen des Kobragiftes

1. $0{,}4\ ^1/_{10}$
2. 0,2
3. $1{,}0\ ^1/_{100}$
4. 0,5
5. 0

Die Gemische bleiben $1^1/_2$ St. bei 37°. Sediment von 1. und 2. mit 10 ccm Kochsalzlösung gewaschen, die übrigen Sedimente durch Absaugen von Flüssigkeit befreit. Zum Abguß je 0,5 ccm 10%iges Rinderblut zugefügt. Zu A $0{,}3\ ^1/_{400}$ Lecithin, zu B 0,2 Meerschweinchenserum.

	Sediment		Abguß	
	A	B	A	B
1.	wohl 0	Spur	komplett	komplett
2.	„	„	„	„
3.	Spur	sehr wenig	„	„
4.	Spürchen	„ „	„	stark
5.	wohl 0	Spur	wohl 0	Spur

		Einstellung des Kobragiftes	
		A	B
1.	$0{,}4\ ^1/_{10}$	komplett	komplett
2.	0,2	„	„
3.	0,1	„	„
4.	$0{,}5\ ^1/_{100}$	„	stark
5.	0,25	mäßig stark	mäßig
6.	$1{,}0\ ^1/_{1000}$	mäßig	wenig mäßig
7.	0,5	wenig mäßig	wenig
8.	0,25	wenig	„
9.	0,1	Spur, Kuppe	Spur
10.	0	Spürchen, Kuppe	„
11.	Blut allein	0	0

Besondere Kontrollversuche zeigten auch, daß das Verhalten genau das gleiche ist, ob die Stammlösungen des Kobragiftes mit Glycerin hergestellt sind oder nicht. Analoge Versuche, die sowohl mit Ziegenblut wie mit Rinderblut in isotonischen Lösungen von Bariumnitrat vorgenommen wurden, ergaben genau dasselbe Resultat und ließen im Gegensatz zu von Dungern und Coca auch dieses Medium keineswegs als die Bindung begünstigend erscheinen.

Nachdem diese Versuche in klarer Weise ergeben hatten, daß eine typische amboceptorartige Bindung der durch Meerschweinchenserum aktivierbaren Komponente des Kobragiftes nicht stattfindet, daß also der von v. Dungern und Coca prätendierte prinzipielle Unterschied gegenüber der Kobragift-

lecithin-Hämolyse nicht besteht, faßten wir noch eine weitere Möglichkeit, die experimentell untersucht werden konnte, ins Auge.

Bei den Fällen komplexer Hämolysine mit immunisatorisch erzeugten Amboceptoren, wie sie von Ehrlich und Morgenroth untersucht worden waren, bestand im Gegensatz zu den hier vorliegenden Versuchen eine sehr bedeutende „Avidität" der Amboceptoren gegenüber den Receptoren der Blutkörperchen. Nun haben später Ehrlich und Sachs bekanntlich Fälle von komplexen Hämolysinen normaler Sera beschrieben, in denen ganz anders geartete Verhältnisse vorlagen. Die Amboceptoren allein wurden hier von den roten Blutkörperchen nicht gebunden. Nach Zusatz geeigneter komplementhaltiger Normalsera trat dagegen Hämolyse ein. Es trat also hier nicht wie in typischen Fällen durch die Verankerung des Amboceptors an die roten Blutkörperchen erst seine „Avidität" zum Komplement in die Erscheinung, sondern umgekehrt war anzunehmen, daß eine „Avidität" des Amboceptors an und für sich den Blutkörperchen gegenüber fehle, dagegen eine Verbindung des ungebundenen Amboceptors mit dem Komplement eintrete. Es wäre also hier der zweite Grenzfall gegeben, der aus der schon früher von Ehrlich und Morgenroth (II. Mitteilung über Hämolysine) entwickelten Diskussion der einschlägigen Verhältnisse als möglich erschien. An derartige Möglichkeiten mußte auch hier gedacht werden; es erschien nicht ausgeschlossen, daß die Avidität zwischen der vorausgesetzten amboceptorartigen Komponente des Kobragiftes und dem Serumkomplement genüge, um schon bei niedriger Temperatur die Bindung Amboceptor-Komplement zu ermöglichen. Der Komplex Amboceptor-Komplement könnte dann von den Blutkörperchen gebunden werden. Der folgende Versuch zeigt, daß auch diese Voraussetzung nicht zutraf.

IV.

0,2 $^1/_{10}$ ccm Kobragift (Stammlösung 1 % in Kochsalzlösung), eine Menge, die nach gleichzeitiger Einstellung mindestens das 8fache der lösenden Dosis darstellt, wird zusammen mit 0,15 ccm Meerschweinchenserum zu 1 ccm 5 %igem gewaschenem Ziegenblut zugesetzt. Alle 3 Komponenten sind vor der Vereinigung durch $^1/_2$stündiges Eintauchen der Röhrchen in Eiswasser gekühlt und bleiben nach dem Mischen 1 St. bei 0° in Eiswasser. Hierauf wird zentrifugiert und das Sediment 1mal mit eisgekühlter Kochsalzlösung gewaschen. Hierauf wird das Sediment

unter Zusatz von 0,15 Meerschweinchenserum im ursprünglichen Volum wieder verteilt, der Abguß mit Meerschweinchenserum (0,15) und 0,5 ccm 10%iger gewaschener Blutaufschwemmung versetzt. Abguß: komplette Lösung; Sediment: Spur; Serum allein: Spur.

Ein gleichzeitiger analoger Versuch mit 0,1 $^1/_{10}$ Kobragift (mindestens 4 lösende Dosen), bei dem nur das Waschen mit Eiswasser unterblieb, ergab für das Sediment sehr wenig, Abguß komplett. Die kleine Differenz beruht wohl auf der unvollkommenen Entfernung der kobragifthaltigen Zwischenflüssigkeit vom Sediment.

Eine Wiederholung des gleichen Versuches, bei der die Bindungszeit auf 5 Stunden ausgedehnt wurde, ergab genau das gleiche Resultat. In bezug auf die fehlende Bindung bei Aktivierung mit Lecithin dürfte eine Differenz kaum mehr entstehen. Wir geben folgenden Versuch wieder.

V.

1,0 ccm Ziegenblut, 2mal gewaschen, 5%ig. Es werden zunächst wechselnde Mengen Kobragift zugefügt, und zwar von einer frisch bereiteten 2%igen Lösung in 0,85%iger Kochsalzlösung ohne Glycerinzusatz. Gesamtvolum 2,0 ccm. Nach $1^1/_2$ St. bei 37° im Brutschrank zentrifugiert und klare Flüssigkeit sorgfältig entfernt. Die Sedimente werden 2mal mit je 10,0 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung gewaschen, dann wieder auf 2,0 ccm aufgefüllt, nach Zusatz von 0,2 ccm der Verdünnung (in Kochsalzlösung) 1:400 einer 10%igen Lecithollösung in Methylalkohol, Behandlung und Ablesung wie üblich. Bestimmung der lösenden Dosis des Kobragiftes gleichzeitig mit demselben Lecithinzusatz.

Kobragiftgrenze	lösende Dosen	Hämolyse des Sediments
0.2 $^1/_{10}$	10	0
0,4 $^1/_{10}$	20	0
0,8 $^1/_{10}$	40	0
0,15	80	0
0,3	160	Spur, Kuppe
0,6	320	„ „
1,0	500	Spur, Zone
0	0	0

Absolute Bestimmung.

Kobragiftmenge	Hämolyse
0,3 $^1/_{100}$	komplett
0,2	„
1,0 $^1/_{1000}$	stark
0,5	mäßig
0,25	wenig
1,0 $^1/_{10000}$	Spur, Kuppe
0,5	0
0	0

Wie der Versuch zeigt, kann man bei Anwendung von Giftmengen, die zwischen 10 und 80 lösenden Dosen schwanken, durch Lecithinzusatz kein an die Blutkörperchen gebundenes Kobrahämolysin nachweisen. Das Resultat bei 160, 320 und 500 lösenden Dosen ändert nichts an dieser Deutung. Es ist nicht auszuschließen, daß trotz des zweimaligen Waschens mit größeren Mengen Kochsalzlösung doch noch genug Kobragift in der Zwischenflüssigkeit zurückgeblieben ist, um die geringen Grade von Hämolyse zu verursachen. Daran kann um so mehr gedacht werden, als hier nicht, wie in anderen Versuchen, nach dem Abgießen der klaren Flüssigkeit die letzten Flüssigkeitsreste durch Absaugen mittels Capillaren unter Kontrolle des Auges entfernt wurden. Wie ein Blick auf die zu dem Versuch gehörige absolute Hämolysinbestimmung ergibt, genügt zu den hier vorkommenden Hämolysegraden $^1/_{20}$ der lösenden Dosis, bei den durch die Prozeduren eher etwas geschädigten Blutkörperchen vielleicht noch weniger. Bei 160 bis 500 lösenden Dosen braucht in der Flüssigkeit also nur etwa der 3000. bis 10000. Teil des zugesetzten Kobragiftes zurückzubleiben, um zu dem diskutierten Fehler zu führen. Noch größere Sorgfalt im Entfernen der Flüssigkeit lohnt wohl kaum die Mühe. Denn je mehr dann die eine Fehlerquelle zurücktritt, um so mehr kann die zweite auftreten, daß nämlich gebundenes Gift wieder losgelöst wird. Unseres Erachtens genügt auch dieser Versuch völlig, um im Einklang mit den Resultaten Lambs, die sich auf geringere Giftmengen erstrecken, festzustellen, daß von einer typischen, amboceptorartigen Bindung hier auch nicht im entferntesten gesprochen werden kann.

Ein analoger Versuch mit Kaninchenblut, dessen Einzelheiten aus dem Protokoll zu ersehen sind, ergab dasselbe Resultat. Dasselbe stimmt mit Lambs Angaben für diese Blutart überein, die übrigens der eine von uns schon früher bestätigt hat (Morgenroth, Festschr., Patholog. Instit., Berlin 1906). Die Kobragiftmengen erfahren hier dadurch eine Begrenzung, daß die großen Dosen, die ja Kaninchenblut schon ohne Lecithinzusatz lösen, nicht verwandt werden konnten.

VI.

Kaninchenblut, 2mal gewaschen, 10%ig 1,0 ccm Kobragift, 1%ig in 0,85%iger Kochsalzlösung. Lecithin (10%) $0{,}2\ ^1/_{400}$.

Mengen des Kobragiftes	Zahl der lösenden Dosen
1. 1,0 $^1/_{100}$	10
2. 0,5	5
3. 0,5	5
4. 0,25	2,5
5. 0	0
6. 0	0

Die Gemische bleiben 1 St. bei 37°. Zentrifugiert. Sedimente von 1. und 2. mit 10 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung gewaschen, die übrigen Sedimente durch Absaugen von Flüssigkeit befreit, auf 2 ccm aufgefüllt. Zum Abguß je 20%iges Kaninchenblut 0,5 ccm zugefügt. Sowohl zum Abguß als zum Sediment 0,2 $^1/_{400}$ Lecithin.

Sediment	Abguß
1. Spürchen, Kuppe	komplett
2. wohl 0	„
3. sehr wenig, Kuppe	„
4. Spürchen, Kuppe	„
5. 0	0
6. (nur Blut) 0	0

Einstellung von Kobragift.

Kaninchenblut 10% 1,0 ccm, Lecithin 0,2 $^1/_{400}$.

Mengen von Kobragift	Hämolyse
1. 1,0 $^1/_{100}$	komplett
2. 0,5	„
3. 0,25	„
4. 1,0 $^1/_{1000}$	„
5. 0,5	stark, fast komplett
6. 0,25	mäßig
7. 0,1	Spur, Kuppe
8. 0	0
9. 00	0

Wir haben uns nun die weitere Frage vorgelegt, die unseres Wissens bisher nicht experimentell behandelt worden ist, in welcher Weise denn das fertig gebildete Kobralecithid von den Blutkörperchen gebunden wird. Das übliche glatte Verfahren des Abzentrifugierens kann hier nicht angewandt werden, da man die eingetretene Hämolyse abwarten muß, es kann also nur der Defekt an Hämolysin in der Flüssigkeit untersucht werden. Ebensowenig empfiehlt es sich, zunächst mit höheren Multipla der lösenden Dosis zu arbeiten; je größer dieselben sind, desto schwieriger wird es, die Versuchsreihen hinreichend fein auszuführen, um geringfügige Defekte aufzufinden. Wir haben deshalb von einem Gemisch aus Kobragiftlösung und Lecithinlösung, die also ein hämolytisch wirksames Lecithid darstellt, gerade die für die angewandte Blutkörperchenmenge ausreichende lösende Dosis gewählt und untersucht, wieviel von derselben nach stattgehabter Hämolyse

verloren gegangen ist. Einzelheiten sind aus der folgenden Tabelle zu ersehen. Die Rotfärbung der zu prüfenden Flüssigkeit nach eingetretener primärer Hämolyse erweist sich nicht als störend, da man mit Hilfe einer Farbenkontrollreihe und unter Berücksichtigung der Sedimentmenge der intakten Blutkörperchen den Verlauf der Reihe A mit ausreichender Genauigkeit beurteilen kann.

VII.

1,0 ccm Ziegenblut, 2mal gewaschen, 10%ig, Kobragift 1%ig in Glycerin-Kochsalzlösung. Lecithol 10%ig in Methylalkohol.

A. Zu 10,0 ccm der Blutaufschwemmung wird 0,5 $^1/_{10}$ der Kobragiftlösung und 0,4 $^1/_{40}$ der Lecithinlösung zugesetzt. Das Gemisch bleibt 1 St. im Wasserbad von 39°, dann 2 St. bei Zimmertemperatur. Es ist dann fast ganz komplette Hämolyse eingetreten; nach Zentrifugieren ist die Flüssigkeit klar mit sehr geringem Bodensatz.

B. Gleichzeitig mit A wird ein Gemisch hergestellt von 10,0 ccm 0,85% Kochsalzlösung + 0,5 ccm $^1/_{10}$ Kobragiftlösung + 0,4 ccm $^1/_{40}$ Lecithinlösung, das gleichfalls 1 St. bei 39° und 2 St. bei Zimmertemperatur bleibt.

Mit beiden Gemischen werden nun parallele Reihen angesetzt, indem wechselnde Mengen zu je 1,0 ccm 5%igen Ziegenbluts zugesetzt werden und noch je 0,2 ccm $^1/_{400}$ Lecithinlösung zugefügt wird. Die Hämolyse durch Gemisch A wird einerseits in der Weise beurteilt, daß die Sedimente nach völligem Absetzen der Reihen A und B verglichen werden; andererseits wird eine Farbenkontrolle hergestellt mit entsprechend verdünntem lackfarbenem Blut, mit der ohne Zusatz von Blutkörperchen eine entsprechende Reihe angesetzt wird.

Zur Kontrolle eine absolute Bestimmung mit wechselnden Mengen von Kobragift, je 1,0 ccm 10%igem Ziegenblut und 0,2 $^1/_{200}$ Lecithol.

Mengen der Gemische	A	B
0,9	komplett	komplett
0,6	„	„
0,4	fast komplett	stark, fast komplett
0,3	stark	mäßig stark
0,2	mäßig	mäßig
0,15	wenig mäßig	wenig, Zone
1,0 $^1/_{10}$	wenig, Kuppe	wenig, Spur
0,6	Spur, Kuppe	Spur, Kuppe
0,4	0	0
0,3	0	0
0,2	0	0
0	0	0

Kobragift	Absolute Bestimmung
1,0 $^1/_{100}$	komplett
0,5	fast ganz komplett
0,25	mäßig stark
0,1	wenig, Zone
0	0

Genau dieselbe Versuchsanordnung haben wir durchgeführt, indem wir zur primären Hämolyse Kaninchenblut verwendeten, zur weiteren Einstellung, wie im vorigen Versuch, Ziegenblut. Das Resultat war ein völlig übereinstimmendes, so daß eine Mitteilung in extenso sich erübrigt.

Das Ergebnis dieser Versuche war einigermaßen überraschend. Es kommt selbst bei Anwendung nur der einfachen lösenden Dosis eine Bindung des Lecithids nicht zum sichtbaren Ausdruck. In einigen Röhrchen der Reihe A ist sogar die Hämolyse um weniges stärker als in der Kontrollreihe B, was möglicherweise auf das Freiwerden sehr geringer Mengen die Hämolyse befördernder Stoffe aus den primär gelösten Blutkörperchen zurückzuführen ist.[1])

Nachdem die vorausgehenden Versuche gezeigt haben, daß das Kobrahämolysin ohne Lecithin sich nicht wie ein typischer Amboceptor verhält, hätte sich immerhin noch sagen lassen, daß dies die Amboceptornatur desselben nicht ausschließt. Allerdings müßte dann hiergegen erwidert werden, daß, dies zugegeben, eine vollständige Verflüchtigung des Amboceptorbegriffes einträte. Denn dieser Begriff und mit ihm die ursprüngliche Ehrlich-Morgenrothsche Vorstellung über den Mechanismus der Hämolysinwirkung ist abgeleitet unter der Voraussetzung, daß der Blutkörperchenreceptor zunächst den Amboceptor und dieser dann das Komplement bindet. Eine gewisse Weitherzigkeit erschien noch da erlaubt, wo wenigstens dem komplettierenden Agens die Kriterien eines Serumkomplements zukamen, dürfte also wohl auch statthaft sein gegenüber der durch Meerschweinchenserum aktivierbaren Komponente des Kobragiftes. Aber bei der Lecithidhämolyse, wo erst durch die Identität des Wirkungsmechanismus mit dem Amboceptor-Komplementschema die komplementartige Wirkung des Lecithins plausibel gemacht werden soll, wird schon durch den Ausfall der Kobragiftbindung die Analogie bedeutend eingeschränkt.

Nun zeigt aber zu alledem noch der vorliegende letzte Versuch, daß von der bei gewissen normalen Hämolysinen vorausgesetzten „Aviditätssteigerung" des Amboceptors durch

[1]) Bei der Hämolyse von Ziegenblut durch Wasser werden allerdings solche Stoffe, wie wir in Übereinstimmung mit Kyes fanden, nicht frei.

die vorgängige Vereinigung mit dem Komplement (der also hier die Lecithidbildung entspräche) nicht die Rede sein kann. Eine gewisse Bindung des fertigen Lecithids, oder, korrekter gesprochen, irgend ein Verbrauch desselben bei der Hämolyse muß ja stattfinden, aber er ist nach dem Resultat der Versuche so geringfügig, daß man eine Verteilung des Lecithids zwischen Außenflüssigkeit und Blutkörperchen annehmen muß, bei der nur ein geringer Bruchteil des Lecithids aufgenommen wird. Auf alle Fälle hat die hier stattfindende Art der Bindung mit der typischen Receptor-Amboceptor-Komplementbindung keine Ähnlichkeit. Auch wenn man die Möglichkeit in Frage zieht, daß die primär gelösten Blutkörperchen bereits gebundenes Lecithid an das neu zugefügte Blut abgeben, so würde auch diese einen strikten Gegensatz zu dem typischen Verhalten der komplexen Hämolysine involvieren.

Wir können also aus dem vorliegenden fremden und eigenen Versuchsmaterial nur den Schluß ziehen, daß — wenigstens auf Grund der Bindungsversuche — die Analogisierung des Kobralecithids mit der Verbindung Amboceptor-Komplement nicht statthaft ist. Bei dem System Kobragift-Meerschweinchenserum muß man die Möglichkeit anerkennen, daß ein komplexes Hämolysin vorliegt, das sein Analogon in gewissen Hämolysinen normaler Sera findet. Die charakteristische Amboceptorbindung — darin stimmen wir mit Sachs im Gegensatz zu v. Dungern und Coca überein — besteht aber auch in diesem Falle nicht.

Durch die Versuche von Lamb, die neueren Versuche von Sachs und die unsrigen dürfte die Bindungsfrage für das Kobragift einigermaßen klargestellt sein. Es erscheint uns nichts weniger als überflüssig, Kontroversen, wie sie durch die ersten eigenartigen Angaben von v. Dungern und Coca entstanden sind, durch experimentelle Untersuchungen von verschiedenen Seiten zu schlichten. Je umfangreicher und unübersehbarer das Gebiet der Immunitätslehre sich ausdehnt, desto mehr häufen sich widersprechende Angaben, zum Teil auf wenigen und methodisch nicht einwandfreien Versuchen beruhend. Derartige Angaben gehen zunächst in die Spezialliteratur, in der Folge auch in die elementaren Lehrbücher über und begründen eine immer

steigende Unsicherheit in bezug auf die Tatsachen unserer Wissenschaft und ihre kritische Beurteilung. Man wird allzu oft an das Wort Vauvenargues gemahnt: „Il est plus aisé de dire des choses nouvelles que de concilier celles qui ont été dites."[1])

Zum Schluß möchten wir bemerken, daß es uns in mehrfachen Versuchen, die wir mit Mitteln der Gräfin Bose-Stiftung ausführten, in Übereinstimmung mit v. Dungern und Coca und im Gegensatz zu Kyes nicht gelungen ist, durch systematische Behandlung von Kaninchen mit Kobralecithid Antikörper zu erhalten. Wir schalteten eine Fehlerquelle v. Dungerns und Cocas aus, indem wir Serum und Kobralecithid vor dem Zufügen der Blutkörperchen längere Zeit digerierten, sahen aber auch hier keinen Unterschied in der Wirkung des (frischen oder verschiedentlich erwärmten) Serums der vorbehandelten Tiere im Vergleich mit normalem Serum. Die Immunisierung war dadurch erschwert, daß, wie schon früher von Morgenroth und Carpi konstatiert wurde, einige nach dem alten Verfahren von Kyes hergestellte Lecithidpräparate neurotoxische Wirkung hatten. Wir kennen die individuellen Schwankungen der Kaninchen bei Immunisierungsversuchen — es sei nur an die Erzeugung von Antilab erinnert — zu Genüge, um zu wissen, daß hier nur sehr großes Material Entscheidung bringen kann. Deshalb sollen auch die Versuche, die sich bisher auf drei Kaninchensera erstreckten, fortgeführt werden, bevor wir sie im einzelnen veröffentlichen. Aber dem gerade nicht umfangreichen Versuchsmaterial von Kyes gegenüber, auf das er seine Annahme eines besonderen Antilecithids stützt, dürfte bis auf weiteres eine starke Skepsis am Platze sein; vielleicht darf man hoffen, daß auch der um dieses Gebiet so verdiente Forscher seine Versuche in dieser Richtung abschließend ergänzt.

[1]) Neuerdings berichtet J. Bang, daß in isotonischer Rohrzuckerlösung Bindung einer hämolytischen Komponente des Kobragiftes an Rinderblut stattfindet. Ich habe früher schon Herrn Ferrata veranlaßt, Bindungsversuche mit den Stromata von Hammelblutkörperchen in isotonischer Rohrzuckerlösung auszuführen. Sie verliefen negativ, ebenso wie entsprechende Versuche in Kochsalzlösung. Es wird nötig sein, auf diese neu auftretende Divergenz noch zurückzukommen.
Morgenroth.

Über den Katalasengehalt des mütterlichen und foetalen Kaninchenblutes und über die Wirkung des foetalen Serums auf das arteigne Tier.

Von

Georg Lockemann und Johannes Thies.

(Aus der chemischen Abteilung des Kgl. Instituts für Infektionskrankheiten in Berlin und der Universitäts-Frauenklinik der Kgl. Charité in Berlin.)

(Eingegangen am 9. März 1910.)

Gemeinsam mit H. Wichern haben wir vor einiger Zeit[1]) die für die Katalasenbestimmung des Blutes nach der Methode von Ad. Jolles in Betracht kommenden Bedingungen genauer untersucht. Als wir dann unter Berücksichtigung dieser Resultate den Katalasengehalt verschiedener Blutarten zu bestimmen versuchten, zeigten sich u. a. gewisse Unterschiede in der Katalasenwirkung des mütterlichen und kindlichen Blutes. Um diesem verschiedenen Verhalten näher nachzugehen und mit Rücksicht auf die zwischen mütterlichem und foetalem Kreislauf ganz allgemein bestehenden wechselseitigen Beziehungen, auch serologische Prüfungen vornehmen zu können, haben wir zunächst weitere Versuche an Kaninchen angestellt. Wir führten einerseits Bestimmungen des Katalasengehaltes von mütterlichem und foetalem Blute aus, andererseits prüften wir die Wirkung des foetalen Serums auf den mütterlichen Organismus, bzw. das arteigne erwachsene Tier.

A. Bestimmungen des Katalasengehaltes von mütterlichem und foetalem Kaninchenblut.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Trächtigen Kaninchen wurden aus der Ohrarterie und -vene Blutproben entnommen, indem die erforderliche Menge (0,05 bis 0,1 ccm) aus dem frisch herausquellenden Tropfen mit einer Capillarpipette aufgesogen, sogleich in physiologische Kochsalzlösung in einem kleinen Meßkolben gebracht und mit Kochsalzlösung auf 1:1000 verdünnt wurde.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 390, 1909.

Nach kräftigem Schütteln wurde die Lösung sogleich ins Dunkle gestellt und möglichst bald für den Versuch verwendet. Durch Laparotomie und Aufschneiden der Uterushöhle wurden die Foeten (gewöhnlich 8 bis 15) nacheinander aus dem Uterus entfernt. Die Blutentnahme geschah in der Weise, daß, in der Regel ehe die jungen Tiere atmen konnten, die Halsaorta oder -vene, oder auch das Herz geöffnet und das ausfließende Blut mit der Pipette aufgesogen wurde. Ebenso wurden aus den Placentargefäßen und meistens auch aus den Blutbahnen des Uterus Proben genommen. Hierbei mußte sehr schnell gearbeitet werden, da das foetale Blut außerordentlich leicht gerinnt und dann für die Bestimmung unbrauchbar ist. Diese leichte Gerinnbarkeit war ganz allgemein dem Blute des gesamten foetalen Kreislaufes, namentlich dem der Placenta, eigen, während das mütterliche Blut, auch wenn es aus dem Uterus genommen wurde, diese Erscheinung nicht zeigte. Nach Entfernung der Foeten und des Uterus wurde unter exakter Blutstillung die Bauchhöhle durch mehrfache Naht wieder geschlossen. Durchweg machten die Kaninchen nach dieser ganzen Operation einen muntern Eindruck. Zur vergleichenden Untersuchuug wurden nun zum Schluß meistens nochmals aus dem Ohr Blutproben entnommen.

Die Katalasenbestimmung geschah in der von uns früher beschriebenen Weise (l. c.). Je 30 ccm einer 1%igen Wasserstoffsuperoxydlösung (aus dem „Perhydrol Merck" hergestellt) wurden mit je 10 ccm der Blutverdünnungen im Dunkelzimmer 2 Stunden lang stehen gelassen, entweder bei Zimmertemperatur (18 bis 20°) oder in einem Kühlbade (10 bis 14°). Sämtliche Proben einer Versuchsserie wurden gleichzeitig angesetzt, so daß die Bedingungen jedesmal für alle die gleichen waren. Nach 2 Stunden wurden die Proben mit verdünnter Schwefelsäure versetzt und mit Kaliumpermanganatlösung von der früher angegebenen Konzentration titriert.

Bei der Berechnung der Katalasenzahlen ergaben sich in den einzelnen Versuchen folgende Werte:

Versuch I am 14. VIII. 08.

Großes hochträchtiges Kaninchen; 10 Foeten. Blutentnahme für Katalasenbestimmung vom Muttertier aus dem Ohr vor der Laparotomie und von einem Foetus. Das Blut der übrigen Tiere für Serumversuche verwendet.

Reaktion im Dunkelzimmer im Kühlbade bei 10 bis 13°.

	Katalasenzahlen		
	a	b	Mittelwert
Muttertier	27,7	27,5	27,6
Foetus	13,4	13,2	13,3

Versuch II am 2. X. 08.

Großes hochträchtiges Kaninchen; 15 Foeten, davon 2 abgestorben. Blutentnahme für Katalasenbestimmung vom Muttertier vor der Laparotomie und von 4 lebenden und 1 abgestorbenen Foetus.

Reaktion im Dunkelzimmer bei 18 bis 19°.

		Katalasenzahlen a	b	Mittelwert
Muttertier	Arterie	17,2	17,0	17,1
	Vene	17,7	17,6	17,65
Foetus I		11,5		
Foetus II		12,7		
Placenta II (Blut etwas geronnen)		5,6		
Foetus III		15,2		
Placenta III (Blut etwas geronnen)		10,5		
Foetus V		12,0		
Placenta V		12,9		
Abgestorbener Foetus VI (Fruchtwasser)		0,3		
Placenta VI (Blut fast farblos)		3,5		

Versuch III am 15. X. 08.

Großes Kaninchen, etwa 14 Tage trächtig; 7 Foeten, davon 4 entnommen. Blutentnahme für Katalasenbestimmung vom Muttertier aus dem Ohr vor der Laparotomie, aus dem Uterus vor Entnahme der Foeten. Das foetale Blut gerinnt außerordentlich leicht, so daß nur eine Blutprobe für die Bestimmung brauchbar war.

Reaktion im Dunkelzimmer bei 19 bis 20°.

			Katalasenzahlen
Muttertier	Ohr	Arterie	17,0
		Vene	16,7
	Uterus	Arterie	18,9
		Vene	17,7
Foetus			7,9
Placenta			5,0

Versuch IV am 15. X. 08.

Großes Kaninchen, etwa 3 Wochen trächtig; 7 Foeten, davon 5 entnommen, von denen 2 abgestorben sind. Blutentnahme für Katalasenbestimmung vom Muttertier aus dem Ohr vor der Laparotomie, aus dem Uterus vor Entnahme der Foeten und von 2 lebenden Foeten, aber 3 Placenten.

Reaktion im Dunkelzimmer bei 19 bis 20°.

			Katalasenzahlen
Muttertier	Ohr	Arterie	13,0
		Vene	14,8
	Uterus	Arterie	14,1
		Vene	15,0
Foetus I			5,7
Placenta I			4,1
Foetus II			3,6
Placenta II			5,4
Placenta III			2,3

Versuch V am 16. X. 08.

Mittelgroßes, hochträchtiges Kaninchen; 9 Foeten, davon 6 entnommen. Blutentnahme für Katalasenbestimmung vom Muttertier aus dem Ohr vor der Laparotomie, aus dem Uterus vor Entnahme der Foeten

und von 3 Foeten. Blutverdünnungen über Nacht im Eisschrank aufbewahrt.

Reaktion am 17. X. im Dunkelzimmer im Kühlbade bei 10 bis 12°.

			Katalasenzahlen
Muttertier	Ohr	Arterie	17,8
		Vene	20,6
	Uterus	Arterie	19,5
		Vene	20,7
Foetus I (während der Laparotomie spontan geboren)			14,8
Placenta I			3,4
Foetus III, einige Zeit geatmet			12,4
Foetus IV			14,4

Versuch VI am 24. X. 08.

Hochträchtiges Kaninchen; 8 Foeten. Blutentnahme für Katalasenbestimmung vom Muttertier aus dem Ohr vor und nach der Laparotomie, aus dem Uterus während Entnahme der Foeten und von 6 Foeten.

Reaktion im Dunkelzimmer bei Zimmertemperatur.

			Katalasenzahlen
Muttertier	Ohr (vor der Laparotomie)	Arterie	19,2
		Vene	20,7
	Uterus	Arterie	20,7
		Vene	20,5
	Ohr (nach der Laparotomie)	Arterie	18,5
		Vene	18,3
Foetus I			15,0
„ II			15,0
„ III			14,3
„ IV			20,2
„ V			16,6
Placenta V			17,0
„ VI			11,9
Foetus VII (50 Min. am Leben gelassen)		Arterie	16,8
		Vene	21,4

Versuch VII am 26. X. 08.

Kaninchen, 10 bis 14 Tage trächtig; 4 Foeten, davon 2 entnommen. Blutentnahme vom Muttertier aus dem Ohr vor der Laparotomie, aus dem Uterus vor Entnahme der Foeten und von 2 Foeten.

Reaktion im Dunkelzimmer bei 19 bis 20°.

			Katalasenzahlen
Muttertier	Ohr	Arterie	25,0
		Vene	24,8
	Uterus	Arterie	22,8
		Vene	24,6
Foetus I			7,8
„ II			9,3

Versuch VIII am 31. X. 08.

Großes, hochträchtiges Kaninchen; 13 Foeten, davon 4 abgestorben. Blutentnahme vom Muttertier aus dem Ohr vor und nach der Laparotomie, aus dem Uterus vor Entnahme der Foeten und von 6 Foeten.

Reaktion im Dunkelzimmer bei 19 bis 20°.

			Katalasenzahlen
Muttertier	Ohr (vor der Laparotomie)	Arterie	18,6
		Vene	19,4
	Uterus	Arterie	17,6
		Vene	17,8
	Ohr (nach der Laparotomie)	Arterie	16,4
		Vene	16,8
Foetus I			6,7
Placenta I			10,0
Foetus II			9,1
Placenta II			12,4
Foetus III			8,8
Placenta III			13,1
Foetus IV (geatmet)			9,9
Foetus V	„		12,4
Placenta V			12,5
Foetus VI (geatmet)			9,8
Placenta VI			13,0

Versuch IX am 7. XI. 08.

Großes, hochträchtiges Kaninchen; 14 Foeten. Blutentnahme vom Muttertier aus dem Ohr vor und nach der Laparotomie, aus dem Uterus vor Entnahme der Foeten und von 6 Foeten.

Reaktion im Dunkelzimmer bei 19 bis 20°.

			Katalasenzahlen
Muttertier	Ohr (vor der Laparotomie)	Arterie	18,5
		Vene	18,4
	Uterus	Arterie	16,4
		Vene	18,8
	Ohr (nach der Laparotomie)	Arterie	16,2
		Vene	16,7
Foetus I			7,1
Placenta I			13,0
Foetus V			9,8
Placenta V			10,3
Foetus VIII			7,2
Placenta VIII			8,4
Foetus IX			10,0
Placenta IX (etwas geronnen)			6,5
Foetus X			8.9
Placenta X			13,9
Foetus XI (20 Min. gelebt)	Hals	Arterie	6,7
		Vene	8,4

Versuch X am 16. XI. 08.

Kaninchen, etwa 14 Tage trächtig; von Foeten nur 2 entnommen. Blutentnahme vom Muttertier aus dem Ohr vor der Laparotomie und von 1 Foetus.

Reaktion im Dunkelzimmer im Kühlbade bei 11 bis 12°.

		Katalasenzahlen
Muttertier, Ohr	Arterie	23,2
	Vene	23,3
Foetus		2,3
Placenta		16,0

Versuch XI am 21. XI. 08.

Hochträchtiges Kaninchen; 9 Foeten. Blutentnahme vom Muttertier aus dem Uterus vor und nach der Entnahme der Foeten und von 4 Foeten.

Reaktion im Dunkelzimmer im Kühlbade bei 14°.

			Katalasenzahlen
Muttertier	Uterus (vor Entnahme)	Arterie	26,9
		Vene	27,0
	Uterus (nach Entnahme)	Arterie	24,4
		Vene	26,0
Foetus I			16,5
Placenta I			18,7
Foetus II			9,8
Placenta II			14,5
Foetus III	Herz		11,6
	Halsvene		13,6
Placenta III			17,3
Foetus IV (30 Min. gelebt)			13,0
Placenta IV			11,7

Versuchsresultate.

Aus den Versuchen geht hervor, daß der Katalasengehalt des foetalen Blutes im allgemeinen wesentlich geringer ist als der des mütterlichen, und zwar schwankt die foetale Katalasenzahl meistens zwischen $^1/_3$ und $^2/_3$ des mütterlichen Wertes.

Ein eindeutiger Einfluß der Atmung auf den Katalasengehalt des Blutes ließ sich in den Fällen, wo die Foeten einige Zeit am Leben erhalten wurden, nicht erkennen. Die Katalasenzahl der Placenta ist meistens um einige Einheiten größer als die des zugehörigen Foetus. Das Fruchtwasser und das Placentarblut abgestorbener Foeten haben fast gar keine oder nur sehr geringe Katalasenwirkung. Der Katalasengehalt des mütterlichen Blutes ist nach der Laparotomie und Entnahme der Foeten im allgemeinen etwas geringer. Es scheint also, daß das Blut nach dem Trauma (wohl durch Zufluß von Lymphe) verdünnter geworden ist.

Der geringere Katalasengehalt des foetalen Blutes wird für die Sauerstoffaufnahme und damit für den Stoffwechsel und das Wachstum des foetalen Organismus von besonderer Bedeutung sein.

B. Wirkung des foetalen Serums auf das arteigne Tier.

Durch die serologischen Untersuchungen von H. Sachs[1]) ist bekannt, daß das Blut der Foeten von Rind, Kaninchen

[1]) Centralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig.-Bd. 34, Nr. 7, S. 686, 1903.

und Huhn verschiedenen Giften (Arachnolysin, Staphylolysin, Aalserum, Kobragift) gegenüber ein anderes Verhalten zeigt wie das Blut der jungen und der erwachsenen Tiere.

H. Sachs wies ferner nach, daß im Serum der Foeten oder Neugeborenen von Rind, Kaninchen, Meerschweinchen die normalen Hämolysine fast vollständig oder gänzlich fehlen. Nach Resinelli[1]) löst das menschliche foetale Serum fremde Blutkörperchen in geringerem Grade als das mütterliche. Frankl und Handovsky[2]) äußern die Ansicht, daß das Fibrinferment der Placenta hauptsächlich aus dem kindlichen Blute stamme. Wie bereits oben erwähnt, beobachteten auch wir, daß das foetale Kaninchenblut besonders schnell gerann; bei menschlichen Foeten machten wir dieselbe Erfahrung. Allerdings ist nach Winkel[3]) schon länger bekannt, daß auch der Fibringehalt des mütterlichen Blutes während der Schwangerschaft zunimmt; auch Lewinski[4]) machte diese Beobachtung. In der menschlichen Placenta wies Shigeji Higuchi[5]) ein Fibrinferment nach, wobei er in normalen, eklamptischen und luetischen Placenten keinen Unterschied fand.

Unter Berücksichtigung der erwähnten Angaben über das verschiedene Verhalten des mütterlichen und des foetalen Blutes und der von uns gefundenen Differenzen im Katalasengehalt lag es nahe, experimentell zu prüfen, welche Wirkung das foetale Blut oder Serum auf den mütterlichen Organismus ausüben würde. Daß artgleiches Blut unter Umständen nachteilig wirken kann, ist von den Transfusionen her bekannt. Es sind auch bereits von verschiedenen Seiten Beobachtungen über die Wirkungen von Placentaraufschwemmungen, die auch foetales Blut enthalten, auf das arteigene Tier mitgeteilt.[6]) Jedoch finden sich bisher nirgends Angaben über die Wirkung des reinen foetalen Serums.

Bei unseren Versuchen verfuhren wir nun folgendermaßen: Zunächst versuchten wir bei hochträchtigen Meerschweinchen eine Kommunikation zwischen dem foetalen und dem mütterlichen Gefäßsystem herzustellen. Jedoch mußten

[1]) Zitiert bei H. Sachs, l. c., S. 691.

[2]) Gynäkolog. Rundschau 1909, Nr. 10.

[3]) Handb. d. Geburtshilfe 1, 1. Hälfte, S. 341.

[4]) Pflügers Archiv 100, 611, 1903. Inaugural-Dissertation, Bonn 1903.

[5]) Diese Zeitschr. 22, 337, 1909.

[6]) Hofbauer, Zeitschr. f. Geb. u. Gynäkol. 61; Freund, Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 15; Weichardt und Piltz, Deutsche med. Wochenschr. 1906, Nr. 46; Martin, Monatsschr. f. Geb. u. Gynäkol. 24, Heft 5.

wir diese Methode aufgeben, da die jungen Tiere während des Versuches rasch zugrunde gingen. Außerdem sind die Meerschweinchen auch für intravenöse Injektionen wenig geeignet. Wir haben daher in der Folge lediglich Kaninchen verwendet. Diesen wurden, wie in Abschnitt A näher angegeben, die Foeten entnommen, die wir dann durch Halsschnitt rasch entbluteten, ehe sie zum Atmen kamen. Ebenso wurden die Placenten aus dem Uterus herausgelöst, aufgeschnitten und durch Ausdrücken entblutet. Beide Blutmengen wurden getrennt steril aufgefangen, defibriniert und zentrifugiert. Das klare, hellgelbe oder schwach rötliche Serum verwandten wir zu den weiteren Versuchen; in einzelnen Fällen benutzten wir auch das defibrinierte Blut direkt.

Wie die Versuchsprotokolle im einzelnen ersehen lassen, injizierten wir in eine Ohrvene oder bisweilen auch in das Abdomen von trächtigen oder nichtträchtigen Kaninchen. Selbstverständlich arbeiteten wir unter allen erforderlichen Kautelen; die Laparotomie und die Gewinnung des Blutes wurde in sterilen Gummihandschuhen vorgenommen. Bei den ersten Versuchen wurde das Serum für die späteren Injektionen auf Eis oder unter Chloroform aufbewahrt. Um aber alle durch eventuelle Veränderungen des Serums beim Aufbewahren verursachten Wirkungen auszuschließen, verwandten wir bei den späteren Versuchen immer frisch gewonnenes Serum. Außer den Wirkungen einmaliger Injektionen kleinerer oder größerer Serummengen interessierte uns vor allem der Einfluß wiederholter Injektionen.

Im folgenden sind sämtliche angestellten Versuche aufgeführt (also keine fortgelassen), aber nicht ganz in der chronologischen Reihenfolge, sondern sachlich geordnet, und zwar:

I. 1 bis 7: Vorversuche zur allgemeinen Orientierung;

II. 8 bis 29: Versuche mit einmaliger Injektion, geordnet nach nichtträchtigen und trächtigen Tieren;

III. 30 bis 79: Versuche mit zweimaliger Injektion, meist im Intervall von 8 Tagen, geordnet nach nichtträchtigen und trächtigen Tieren;

IV. 80 bis 101: Versuche mit mehrmaliger Injektion, im Intervall von mehreren Tagen, geordnet nach nichtträchtigen und trächtigen Tieren.

Es bedeuten: F.-Serum = foetales Serum, P.-Serum = placentares Serum, M.-Serum = Mischserum von foetalem und placentarem Serum.

I. Vorversuche (1 bis 7).

a) Meerschweinchen.

Versuch 1.

22. VII. 08. Trächtiges Meerschweinchen. 2 Junge entnommen. Völlig munter. Das Blut der Placenten und der Foeten defibriniert, zentrifugiert. 2 ccm Serum wurden subcutan injiziert. Keine Symptome.

25. VII. 08. Nachts ist Exitus eingetreten.

Versuch 2.

22. VII. 08. Trächtiges Meerschweinchen. Injektion von 2 ccm des foetalen und Placentar-Serums am linken Oberschenkel subcutan. Nach der Injektion völlig munter.

31. VII. 08. 1,0 ccm desselben Serums, das bis dahin auf Eis aufbewahrt wurde, in den rechten Oberschenkel subcutan. Munter.

b) Kaninchen (3 bis 7).

Versuch 3.

9. XI. 08. Kleines, 133 g schweres junges Kaninchen. $^1/_2$ ccm Serum eines erwachsenen Tieres intraperitoneal injiziert. Läßt Faeces, doch munter.

17. XI. 08. 1 ccm Serum vom erwachsenen Tier, intraperitoneal injiziert. Es putzt sich immer die Nase, doch munter.

Versuch 4.

9. XI. 08. Kleines, 218 g schweres Kaninchen. Injektion von 1 ccm defibrinierten Blutes eines erwachsenen Tieres intraperitoneal. Ohne Erscheinungen.

17. XI. 08. Injektion von 1 ccm defibrinierten Blutes intraperitoneal. Ohne Erscheinungen. Deshalb getötet zur Blutentnahme.

Versuch 5.

9. XI. 08. Mittelgroßes Kaninchen. 1 ccm Blut vom jungen, 150 g schweren Kaninchen in die Ohrvene injiziert. Munter.

17. XI. 08. 1 ccm Blut desselben Tieres wie am 9. XI. injiziert. Munter.

Versuch 6.

9. XI. 08. Kaninchen mittelgroß. Blutentnahme zur Injektion der kleinen Tiere von Versuch 1 und 2. 1 ccm Serum vom kleinen Tier intravenös injiziert. Munter.

17. XI. 08. 1 ccm Serum vom kleinen, 150 g schweren Tier intravenös injiziert. Munter.

Versuch 7.

9. XI. 08. Großes Kaninchen, 3 Monate alt. Injektion von 1 ccm Blut vom kleinen Kaninchen. Putzt sich die Schnauze, sitzt geduckt, doch munter.

17. XI. 08. 1 ccm Blut des jungen Tieres intravenös injiziert. Munter.

II. Versuche mit einmaliger Injektion (8 bis 29).

a) Nichtträchtige Kaninchen (8 bis 18).

Versuch 8.

27. XI. 08. Mittelgroßes Kaninchen. 2 ccm F.-Serum intravenös injiziert. Munter.

Versuch 9.

27. XI. 08. Mittelgroßes Kaninchen. 2 ccm F.-Serum intravenös injiziert. Munter.

Versuch 10.

27. XI. 08. Mittelgroßes Kaninchen. 2 ccm P.-Serum intravenös injiziert. Keine Erscheinungen.

Versuch 11.

27. XI. 08. Mittelgroßes Kaninchen. 2 ccm P.-Serum intravenös injiziert. Ohne Einwirkung.

Versuch 12.

14. XII. 08. Mittelgroßes Kaninchen. 2 ccm F.-Serum intravenös injiziert. Munter.

Versuch 13.

14. XII. 08. Derselbe Versuch und dasselbe Resultat.

Versuch 14.

7. XI. 08. Mittelgroßes Kaninchen. 2 ccm P.-Blut und 2 ccm P.-Serum intravenös. Matt, legt sich hin, beschleunigte Atmung. Die Extremitäten bleiben liegen, wie man sie hinlegt. $^1/_2$ Stunde später hat sich das Tier erholt.

Versuch 15.

7. XI. 08. Mittelgroßes Kaninchen. 1 ccm F.-Serum teils intravenös, teils subcutan. In der Nacht vom 16. zum 17. XI. Exitus.

Sektionsbefund: Seröser Erguß in die Pleura und das Perikard. Dunkelrote Milz.

Versuch 16.

5. XI. 08. Mittelgroßes Kaninchen. Injektion von 1 ccm P.-Serum vom 29. VIII. 08 intravenös. Aufgeregt. Augen treten hervor, doch darauf munter.

9. XI. 08. Plötzlich (ohne Injektion) unter Krämpfen Exitus innerhalb von 2 Minuten.

Sektion: Herzkammer voll Blut, eitrige Pleuritis.

Versuch 17.

24. X. 08. Junges, 6 Wochen altes Kaninchen. 1 ccm F.-Serum intravenös injiziert. Kaninchen fällt nach 2 Minuten um und ist tot ohne jeden Krampfanfall.

Sektion: Auf der Pleura Petechien.

Versuch 18.

24. X. 08. Großes, altes Kaninchen. 2 ccm F.-Serum intravenös injiziert. Nach 1 Minute klonische Krämpfe, Aussetzen der Atmung, noch ein zweites Mal Krämpfe. Exitus.

Sektion: Petechien auf den serösen Häuten.

b) Trächtige Kaninchen (19 bis 29).

Versuch 19.

18. X. 08. Hochträchtiges Kaninchen. Entnahme von 10 Foeten. Gewinnung von F.-Serum, P.-Serum, M.-Serum. Injektion von 7 ccm F.-Serum intravenös. Ohne Symptome.

Versuch 20.

2. X. 08. Großes trächtiges Kaninchen. 15 Foeten entnommen, davon zwei maceriert. Gewinnung von F.-Serum, P.-Serum, M.-Serum.

9. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

19. X. 08. Exitus. Am Tage vorher war es munter.

Versuch 21.

9. X. 08. Mittelgroßes, trächtiges Kaninchen. 6 kleine Foeten entnommen, wenig Blut. Gewinnung von F.-Serum, P.-Serum und M.-Serum.

29. X. 08. 3 ccm P.-Serum intravenös injiziert. Gleich darauf Krämpfe, legt sich auf die Seite, zieht den Kopf zurück, schnappt schwer nach Luft, dann in wenigen Minuten Exitus.

Sektion: Petechien auf beiden Pleuren, an der Leber makroskopisch nichts zu erkennen.

Versuch 22.

9. X. 08. Sehr großes, hochträchtiges Kaninchen. 2 ccm P.-Serum intravenös injiziert. 1 Minute nach der Injektion legt sich das Tier auf die Seite. Matt, zieht den Kopf hoch. Tonische Krämpfe. Dann klonische Krämpfe. Exophthalmus. Fauchende Atmung. Exitus.

Sektion: Hämorrhagien auf der Pleuraoberfläche.

Versuch 23.

17. X. 08. Großes, trächtiges Kaninchen, seit 3 Wochen trächtig Entnahme von 7 Foeten. Gewinnung von F.-Blut und P.-Blut und -Serum. 2 ccm F.-Serum der eigenen Foeten intravenös injiziert, ist dann noch munter.

18./19. X. 08. Exitus in der Nacht. Bis dahin völlig munter.

Versuch 24.

24. X. 08. Hochträchtiges, mittelgroßes Kaninchen. 1 ccm F.-Serum intravenös injiziert. Das Tier läuft noch 1 Minute herum, duckt sich, legt sich dann hin, bekommt klonische und tonische Krämpfe; die Atmung setzt aus. Exitus.

Sektion: Petechien auf der Pleura pulmonalis.

Versuch 25.

26. X. 08. Großes, erst kurze Zeit trächtiges Tier. Herausnahme von 4 Jungen, andere bleiben zurück. Gewinnung von F.- und P.-Serum. In den Uterus wird intravenös und subserös von dem eigenen foetalen Serum injiziert. Unmittelbar darauf die Bauchhöhle rasch geschlossen. Etwa 4 Minuten nach der Injektion legt es sich auf die Seite, bekommt mehrere Krampfanfälle. Exitus.

Sektion: Petechien auf der Pleuraoberfläche.

Versuch 26.

7. XI. 08. Hochträchtiges Kaninchen. 2 ccm F.-Blut intravenös injiziert. Die Atmung ist beschleunigt. Es gähnt immer und zeigt Zuckungen an der Schnauze und am ganzen Körper. Die Haare sträuben sich; das Tier macht einen kranken Eindruck. Es sitzt immer auf derselben Stelle.

$^1/_4$ Stunde später 1 ccm F.-Serum, noch $^1/_4$ Stunde später wieder 1 ccm F.-Serum. Das Tier macht einen schwerkranken Eindruck, erholt sich aber wieder.

20. XI. 08. Exitus.

Versuch 27.

7. XI. 08. Großes Kaninchen, trächtig. 14 Foeten entnommen. Gewinnung von F.-Blut und F.-Serum, P.-Blut und P.-Serum. 2 ccm F.-Serum intravenös injiziert. Munter.

Versuch 28.

14. XII. 08. Großes Kaninchen. 5 Junge entnommen. Gewinnung von F.- und P.-Serum. 2 ccm F.-Serum intravenös injiziert. Ohne Resultat.

Versuch 29.

14. XII. 08. Großes Kaninchen. 10 Junge, 14 Tage trächtig. Entnahme der Foeten. Gewinnung von F.- und P.-Serum. 2 ccm F.-Serum intravenös injiziert. Duckt sich, munter.

III. Versuche mit zweimaliger Injektion (30 bis 79).

a) Nichtträchtige Kaninchen (30 bis 71).

Versuch 30.

Ausgewachsenes Kaninchen.

I. Injektion: 8. VII. 08. 4 Uhr 23 Min. 2 ccm F.-Serum in die Ohrvene. Darauf munter.

II. Injektion: 17. VII. 08. 12 Uhr 1,5 ccm P.-Serum in die Ohrvene. Das Tier sitzt geduckt in einer dunklen Ecke. $^1/_2$ Stunde später plötzlich krampfhaftes Zucken der hinteren Extremitäten. Es schreit auf. Klonische und tonische Krämpfe; binnen einigen Minuten Exitus.

Versuch 31.

Kaninchen, 3050 g schwer.

I. Injektion: 22. VII. 08. 5 Uhr 7 Min. 2 ccm F.-Serum in die Ohrvene. Ohne Symptome.

II. Injektion: 1. VIII. 08. 2 Uhr 50 Min. 2 ccm F.-Serum in die Ohrvene. Bis zum Abend munter, ohne Symptome.

Versuch 32.

4 Wochen altes Kaninchen.

I. Injektion: 6. VIII. 08. $^1/_4$ ccm verdünnten P.-Serums in die Ohrvene und subcutan. Ohne Reaktion.

II. Injektion: 12. VIII. 08. $^3/_4$ ccm P.-Serum in die Ohrvene. Erscheint munter.

Versuch 33.

Ausgewachsenes Kaninchen.

I. Injektion: 14. VIII. 08. 0,6 ccm F.-Serum intravenös. Munter

II. Injektion: 21. VIII. 08. 2 ccm F.-Serum, das seit dem 14. VIII. auf Chloroform aufbewahrt war, intravenös. Munter.

Versuch 34.

Ausgewachsenes Kaninchen.

I. Injektion: 14. VIII. 08. 0,6 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion. 21. VIII. 08. 2 ccm P.-Serum, das seit dem 14. VIII. auf Chloroform aufbewahrt war, intravenös. Munter.

Versuch 35.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 5. IX. 08. 1 ccm F.-Serum vom 29. VIII. intravenös. Munter.

II. Injektion: 9. IX. 08 3 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 36.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 5. IX. 08. 1 ccm F.-Serum vom 29. VIII. und 2 ccm F.-Serum vom 24. VIII. intravenös. Ohne Resultat.

II. Injektion: 9. IX. 08. 9 Uhr 15 Min. 2 ccm P.-Serum intravenös. 9 Uhr 30 Min. Das Tier legt sich, kann sich nicht mehr aufrichten. Wenn es auf die Seite gelegt wird, bleibt es ruhig liegen. Atmung beschleunigt. Augen treten hervor. 9 Uhr 45 Min. noch schwach, es liegt noch auf der Seite. Extremitäten bleiben liegen, wie man sie hinlegt. 10 Uhr 15 Min. allgemeine Schwäche. Die Extremitäten liegen unbeweglich. Erholt sich allmählich wieder.

Versuch 37.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 5. IX. 08. $^1/_2$ ccm P.-Serum intravenös. Ohne Reaktion.

II. Injektion: 9. IX. 08. 4 ccm F.-Serum intravenös. Munter. 3 ccm P.-Serum. Atmung aufgeregt. Exophthalmus. Mattigkeit. Duckt sich in eine dunkle Ecke, doch ist es bald wieder munter.

Versuch 38.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 9. IX. 08. 1 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 19. IX. 08. 9 Uhr vorm. 2 ccm F.-Serum intravenös. Das Tier legt sich, streckt die Beine aus, ist sehr unruhig, fällt auf die Seite und bekommt Krämpfe. Die Atmung setzt aus. Einige tiefe Atemzüge, nochmals Krämpfe. 9 Uhr 4 Min. Exitus.

Versuch 39.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 8. IX. 08. 1 ccm M.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 18. IX. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 40.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 9. IX. 08. 2 ccm M.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 18. IX. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Matt, doch später munter.

Versuch 41.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 9. IX. 08. 1 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 18. IX. 08. 9 Uhr vorm. 2 ccm F.-Serum intravenös. Mattigkeit. 10 Uhr noch schwach, läßt sich auf die Seite legen, richtet sich nur langsam wieder auf. 2 Uhr munter.

Versuch 42.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 18. IX. 08. 9 Uhr 15 Min. 2 ccm P.-Serum intravenös. Schwäche. 10 Uhr beschleunigte Atmung, Mattigkeit, legt sich auf die Seite. 2 Uhr wieder munter.

II. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 43.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 18. IX. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Atmung beschleunigt. Mattigkeit. Läßt sich auf die Seite legen. 3 Stunden später wieder munter.

II. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Anfangs Atmung beschleunigt; das Tier kauert sich zusammen; 2 Stunden später noch matt, doch läuft es wieder.

17. X. 08. Exitus.

Versuch 44.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 18. IX. 08. 9 Uhr 15 Min. 6 ccm F.-Serum intravenös. 9 Uhr 20 Min. 2 ccm F.-Serum. 9 Uhr 23 Min. 2 ccm F.-Serum; 9 Uhr 30 Min. matt, es duckt sich, Atmung sehr aufgeregt. 10 Uhr Mattigkeit. Atmung noch beschleunigt. 2 Uhr munter.

II. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös, etwas matt, doch später munter.

Versuch 45.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 18. IX. 08. 9 Uhr 16 Min. 2 ccm P.-Serum intravenös. Atmung ist beschleunigt. Das Tier macht sehr schwachen Eindruck. Wenn man es auf die Seite legt, bleibt es liegen. 2 Uhr noch sehr matt.

II. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm P.-Serum. Sehr matt, sitzt geduckt, läßt sich apathisch auf die Seite legen, 1 Stunde später munter.

Versuch 46.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 18. IX. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Etwas matt; Atmung beschleunigt. Später munter.

Versuch 47.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 9. X. 08. 4 Uhr nachm. 2 ccm F.-Serum intravenös. 1 Uhr 30 Min.: Das Tier legt sich auf die Seite; beschleunigte Atmung. Hervortreten der Augen. Es streckt die Extremitäten von sich, klonische Krämpfe, zieht den Kopf nach oben, nochmals Krämpfe und Exitus.

Sektion: Kleine Petechien auf der Pleura. Herz gefüllt.

Versuch 48.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 9. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Mattigkeit, beschleunigte Atmung, später munter.

Versuch 49.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 9. X. 08. 1 Uhr 2 ccm F.-Serum intravenös. Atmung beschleunigt. Mattigkeit. 1 Uhr 5 Min.: Liegt völlig gelähmt auf der Seite, beschleunigte Atmung, reagiert nicht auf Reize, legt den Kopf lang auf die Erde, sieht aus wie sterbend. 1 Uhr 20 Min.: Hat sich wieder erholt; 2 Uhr 30 Min.: Munter.

II. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Beschleunigte Atmung. Munter.

Versuch 50.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 9. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Beschleunigte Atmung. Duckt sich in dunkle Ecken. Später munter.

II. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Beschleunigte Atmung. Munter.

9. XI. 08. Plötzlicher Exitus.

Versuch 51.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 9. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Das Tier ist matt, streckt die hinteren Extremitäten von sich und bleibt liegen, wo man es hinlegt. Beschleunigte Atmung. 20 Min. nach der Injektion läuft es wieder.

II. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm P.-Serum. Beschleunigte Atmung. Munter.

Versuch 52.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 9. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Beschlenigte Atmung; munter.

11. XI. 08. Tot aufgefunden. Vorher munter. Todesursache unbekannt.

Versuch 53.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 14. X. 08. 1/2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 16. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 54.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 15. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Beschleunigte Atmung; Unruhe; hervortretende Augen; später munter.

II. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Beschleunigte Atmung; munter.

Versuch 55.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Beschleunigte Atmung; später munter.

II. Injektion: 24. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Niest andauernd; klonische und tonische Krämpfe; etwa 2 Min. später Exitus.

Sektion: Petechien auf den serösen Häuten.

Versuch 56.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Beschleunigte Atmung; große Mattigkeit; 1/2 Stunde später besser, wenn auch noch matt.

II. Injektion: 24. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Unruhe; aufgeregte Atmung; später munter.

Versuch 57.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Beschleunigte Atmung; munter.

II. Injektion: 24. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Unruhe; niest andauernd; macht den Eindruck eines schwerkranken Tieres; 2 Min. später sind die Erscheinungen vorüber. Munter.

Versuch 58.

6 Wochen altes Kaninchen.

I. Injektion: 24. X. 08. 1 ccm P.-Serum intravenös. Atmung aufgeregt; das Tier zieht den Kopf nach hinten, ist sehr matt.

II. Injektion: 31. X. 08. 1 ccm P.-Blut intravenös. Munter.

2. XII. 08. Tot aufgefunden. Todesursache unbekannt.

Versuch 59.

Großes Kaninchen.

I. Injektion: 24. X. 08. 1 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 31. X. 08. 2 ccm P.-Blut intravenös. Starkes Niesen; das Tier legt sich hin, läuft wieder einige Schritte vorwärts; bekommt Krämpfe, klonische und tonische, biegt den Kopf zurück; Atmung setzt aus. Exophthalmus. Exitus nach 2 Min.

Sektion: Petechien auf der Pleura.

Versuch 60.

6 Wochen altes Kaninchen, 440 g schwer.

I. Injektion: 24. X. 08. $^1/_2$ ccm F.-Serum subcutan. Mattigkeit, später munter.

II. Injektion: 31. X. 08. 1 ccm F.-Blut intravenös. Matt; dann wieder munter.

2. XII. 08. Exitus.

Versuch 61.

Großes Kaninchen.

I. Injektion: 24. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 31. X. 08. 2 ccm F.-Blut intravenös. Atmung beschleunigt, später munter.

Versuch 62.

Großes Kaninchen.

I. Injektion: 26. X. 08. 2 ccm M.-Serum intravenös. Beschleunigte Atmung. Munter.

II. Injektion: 31. X. 08. 2 ccm P.-Blut intravenös. Munter.

Versuch 63.

Großes Kaninchen.

I. Injektion: 31. X. 08. 2 ccm P.-Blut intravenös. Munter.

II. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. 2 Min. später tonisch-klonische Krämpfe, zieht den Kopf zurück; 4 Min. nach der Injektion Exitus.

Sektion: Ohne Befund.

Versuch 64.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 31. X. 08. 2 ccm P.-Blut intravenös. Munter.

II. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm P.-Blut intravenös. Munter.

Versuch 65.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 31. X. 08. 1,5 ccm F.-Blut intravenös. Munter.

II. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm F.-Blut intravenös. Munter.

Versuch 66.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 31. X. 08. 1,25 ccm F.-Blut intravenös. Munter.

II. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm F.-Blut intravenös. Munter.

Versuch 67.

7 Wochen altes Kaninchen, 820 g schwer.

I. Injektion: 31. X. 08. 1 ccm P.-Blut intravenös. Munter.

II. Injektion: 7. XI. 08. 1 ccm P.-Blut intravenös. Anfangs munter, 2 Min. später matt, fällt auf die Seite. Krämpfe; zieht den Kopf nach oben. Klonische Krämpfe. Exitus.

Sektion: Ohne Befund.

Versuch 68.

7 Wochen altes Kaninchen.

I. Injektion: 31. X. 08. 2 ccm P.-Blut intravenös. Munter.

II. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm P.-Blut intravenös. Munter.

Nachts vom 14. zum 15. XI. 08 Exitus.

Sektion: Erguß in die Pleurahöhlen, seröse Flüssigkeit. Große Milz.

Versuch 69.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 7. XI. 08. 1 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 21. XI. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Legt sich und ist nicht munter, später ohne Symptome.

Versuch 70.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 21. XI. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 71.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 21. XI. 08. 2 ccm Serum intravenös. Munter. Anfangs Atmung etwas beschleunigt und unruhig.

b) Trächtige Kaninchen (72 bis 79).

Versuch 72.

Ausgewachsenes Kaninchen, hochträchtig.

8. VII. 08. Laparotomie, 9 Foeten herausgenommen. Gewinnung von F.- und P.-Serum.

I. Injektion: 8. XII. 08 in die Ohrvene: 4 Uhr 15 Min. 2 ccm F.-Serum; 4 Uhr 20 Min. 2 ccm F.-Serum; 4 Uhr 30 Min. 2 ccm F.-Serum; 4 Uhr 45 Min. 2 ccm P.-Serum. Munter.

II. Injektion: 17. VIII. 08. 4 ccm F.-Serum in die Ohrvene. Atmet schnell, macht etwas kranken Eindruck.

29. IX. 08. Getötet wegen eines großen Abscesses in der Bauchnaht.

Versuch 73.

Hochträchtiges, weißes Kaninchen, 2250 g schwer (nach der Operation). 22. VII. 08: 7 Junge durch Laparotomie entnommen mit den Placenten. Gewinnung von F.- und P.-Serum.

I. Injektion: 31. VII. 08: 11 Uhr 15 Min. 1,5 ccm F.-Serum intravenös. Das Tier läßt Urin. Munter.

II. Injektion: 3. VIII. 08. 3 Uhr 30 Min. 1 ccm F.-Serum. Anfangs ohne Symptome, dann Unruhe; legt sich nieder. 2 Stunden nach der Injektion munter.

28. VIII. 08. Tot aufgefunden.

Versuch 74.

Großes, trächtiges Kaninchen.

I. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 10. X. 08. 2 Uhr: 2 ccm P.-Serum intravenös. Darauf beschleunigte Atmung; das Tier legt sich auf die Seite, bekommt klonische Krämpfe. Wiederholte Krampfanfälle, zieht den Kopf hoch, hervortretende Augen. Exitus.

Sektion: Kleine Blutungen auf Pleura und Perikard. 12 reife Foeten im Uterus.

Versuch 75.

4000 g schweres Kaninchen.

24. X. 08. Entnahme der Foeten. Gewinnung von F.- und P.-Serum.

I. Injektion: 24. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 31. X. 08. 2 ccm P.-Blut intraperitoneal. Atmung beschleunigt, das Tier legt sich auf die Seite; Mattigkeit, macht schwerkranken Eindruck. $^1/_2$ Stunde später wieder munter.

20. XI. 08. Exitus. Vorher munter.

Versuch 76.

Großes Kaninchen. Seit 3 Wochen trächtig; 4950 g schwer.

31. X. 08. Entnahme von 13 Foeten, 4 davon maceriert.

I. Injektion: 31. X. 08. 2 ccm F.-Blut der eigenen Foeten in die Ohrvene; 1 Stunde später nochmals 2 ccm F.-Blut. Munter.

II. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm F.-Blut intravenös. Munter.

19./20. XI. 08. Nachts Exitus. Bislang munter.

Versuch 77.

Großes Kaninchen, 4320 g schwer, seit 14 Tagen trächtig.

I. Injektion: 31. X. 08. 1 ccm F.-Blut, später 0,8 ccm F.-Blut in die Ohrvene. Beschleunigte Atmung, macht kranken Eindruck; duckt sich, die Haare sträuben sich, macht ständig Kaubewegungen. 1 Stunde später noch matt und schreckhaft.

II. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 78.

Großes Kaninchen, seit etwa 14 Tagen trächtig.

I. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 21. XI. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Mattigkeit Beschleunigte Atmung. Später munter.

Versuch 79.

Mittelgroßes, etwa seit 3 Wochen trächtiges Kaninchen.

27. XI. 08. Entnahme von 10 Foeten. Gewinnung von F.-Serum und P.-Serum.

I. Injektion: 27. XI. 08. 2 ccm eigenes F.-Serum intravenös. Sitzt dauernd geduckt. Atmung beschleunigt, munter.

II. Injektion: 14. XII. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

IV. Versuche mit mehrmaliger Injektion (80 bis 101).

a) Nichtträchtige Kaninchen (80 bis 94).

Versuch 80.

Kaninchen, 2800 g schwer.

I. Injektion: 22. VII. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Ohne Symptome.

II. Injektion: 31. VII. 08. 11 Uhr 20 Min. 1,5 ccm F.-Serum intravenös. Das Serum ist nicht mehr steril. Ohne merkliche Folgen. Das Tier läßt Urin und Faeces.

III. Injektion: 14. VIII. 08. 2 Uhr 50 Min. 2 ccm frisches F.-Serum in die Ohrvene. Ohne jede Symptome.

IV. Injektion: 27. IX. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Ohne Symptome.

V. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

VI. Injektion: 9. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 81.

Kaninchen, 2700 g schwer.

I. Injektion: 22. VII. 08. 4 Uhr 30 Min. 2 ccm F.-Serum in die Ohrvene. 4 Uhr 43 Min. legt es sich schlaff hin, dann auf die Seite. Die Augen treten hevor. 4 Uhr 50 Min. liegt es absolut schlaff auf der Seite. 5 Uhr noch völlige Lähmung. 5 Uhr 5 Min.: Die Atmung ist ruhiger; versucht sich wieder aufzurichten. 5 Uhr 10 Min. läuft wieder herum. 5 Uhr 15 Min. normal.

II. Injektion: 31. VI. 08. 1,5 ccm F.-Serum vom 23. VII. intravenös. Ohne Folgen.

III. Injektion: 14. VIII. 08. 2,0 ccm F.-Serum intravenös. Völlig munter.

IV. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

V. Injektion: 27. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 82.

Kaninchen, 2050 g schwer.

I. Injektion: 22. VII. 08. 4 Uhr 31 Min. 2 ccm P.-Serum in die Ohrvene. 4 Uhr 44 Min. Krämpfe, zieht den Kopf nach hinten; andauernde Krämpfe, liegt auf der Seite. Exophthalmus. 4 Uhr 46 Min. klonische Krämpfe. 4 Uhr 50 Min. liegt gelähmt auf der Seite. Die Atmung ist dabei langsam und tief. 5 Uhr 5 Min. noch völlige Lähmung. Wenn es angerührt wird, treten neue Krämpfe auf. Rotiert stark die Bulbi. 5 Uhr 20 Min. versucht sich aufzurichten, dabei dreht es den Kopf immer zur Seite und zuckt mit den Augen, erholt sich wieder.

23. VII. 08. Wieder völlig munter.

II. Injektion: 31. VII. 08. 11 Uhr 17 Min. 1,5 ccm P.-Serum vom 23. VII., nicht mehr völlig steril, intravenös. Ohne merkliche Folgen. Das Tier läßt Urin und Faeces.

III. Injektion: 3. VIII. 08. 12 Uhr 25 Min. 1,5 ccm P.-Serum. Anfangs sitzt das Tier ziemlich apathisch, läßt sich nicht von der Stelle wegbewegen. 1 Uhr 42 Min. Unruhe. 1 Uhr 49 Min. dreht sich einige Male im Kreise herum, ist äußerst unruhig, legt sich zeitweise auf die Seite und macht einen schwerkranken Eindruck. Kurz darauf Exitus.

Sektion: Ohne Befund.

Versuch 83.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 6. VIII. 08. $^1/_2$ ccm P.-Serum in die Ohrvene. Ohne Reaktion.

II. Injektion: 12. VIII. 08. $^3/_4$ ccm F.-Serum verdünnt, intravenös. Ohne Reaktion.

III. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös.

IV. Injektion: 9. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Unruhe, läuft munter, wird dann matt, legt sich auf die Seite, zieht den Kopf in den Nacken, mehrmals klonische Krämpfe. 3 Minuten nach der Injektion Exitus.

Versuch 84.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 6. VIII. 08. $^1/_2$ ccm P.-Serum in die linke Ohrvene. Ohne Reaktion. Atmung beschleunigt.

II. Injektion: 12. VIII. 08. $^3/_4$ ccm P.-Serum (verdünnt) intravenös. Es läßt Urin und Faeces. Munter.

III. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

IV. Injektion: 9. X. 08. 2 ccm F.-Serum. Unruhe, beschleunigte Atmung. Duckt sich in dunkle Ecke. $^1/_4$ Stunde später munter.

Versuch 85.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 29. VIII. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 5. IX. 08. 5 ccm F.-Serum intravenös. Darauf Unruhe und hervortretende Augen.

III. Injektion: 9. IX. 08. 3 ccm F.-Serum. Munter.

Versuch 86.

Großes Kaninchen.

I. Injektion: 29. VIII. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 5. IX. 08. 1,5 ccm F.-Serum und 1,5 ccm M.-Serum intravenös, zum Teil subcutan. Anfangs Unruhe, später munter.

III. Injektion: 9. IX. 08. $2^1/_2$ ccm F.-Serum. Munter.

Versuch 87.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 29. VIII. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 5. IX. 08. 4 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

III. Injektion: 9. IX. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

IV. Injektion: 9. IX. 08. 1 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 88.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 29. VIII. 08. 2 ccm P.-Serum in die Ohrvene. Munter.

II. Injektion: 5. IX. 08. 1,5 ccm P.-Serum und 1 ccm M.-Serum intravenös. Munter.

III. Injektion: 9. IX. 08. 3 ccm M.-Serum intravenös. Anfangs munter. 6 Minuten später Krämpfe. Exophthalmus und binnen 1 Minute unter klonischen und tonischen Krämpfen Exitus.

Sektion: Ohne Befund; keine Petechien.

Versuch 89.

Großes Kaninchen.

I. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 9. X. 08. 2 ccm F.-Serum. Atmung beschleunigt. Unruhe. Hervortretende Augen; später munter.

III. Injektion: 27. XI. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 90.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Beschleunigte Atmung und Mattigkeit, später noch matt, doch erholt es sich.

II. Injektion: 24. X. 08. 2 ccm F.-Serum. Beschleunigte Atmung. Hervortretende Augen; das Tier läßt sich hinlegen, wie man will; macht schwerkranken Eindruck. 1 Stunde später noch matt.

III. Injektion: 27. IX. 08. 2 ccm F.-Blut intravenös. Munter.

Versuch 91.

Großes Kaninchen.

I. Injektion: 21. XI. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Atmung beschleunigt; sonst munter.

II. Injektion: 27. XI. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

III. Injektion: 14. XII. 08. 2 ccm F.-Blut intravenös. Munter.

4. I. 09. Exitus aus unbekannter Ursache; da bislang munter, höchstwahrscheinlich nicht mehr durch die Injektion verursacht.

Versuch 92.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 21. XI. 08. 1 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 27. XI. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

III. Injektion: 14. XII. 08. 2 ccm F.-Blut intravenös. Munter.

Versuch 93.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 21. XI. 08. 1 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 27. XI. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Etwas matt, später munter.

III. Injektion: 14. XII. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 94.

Mittelgroßes Kaninchen.

I. Injektion: 21. XI. 08. 1 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 27. XI. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

III. Injektion: 14. XII. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

b) Trächtige Kaninchen (95 bis 101).

Versuch 95.

Großes Kaninchen, hochträchtig.

14. VIII. 08. Herausnahme von 10 Foeten. Gewinnung von F.-Serum, P.-Serum und M.-Serum. Alle Proben mit Chloroform im Eisschrank aufbewahrt.

I. Injektion: 21. VIII. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Ohne Reaktion.

II. Injektion: 2. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

III. Injektion: 9. X. 08. 2 ccm F.-Serum. Unruhe, Atmung beschleunigt, schreit laut, doch nach 10 Minuten munter, deshalb noch 1 ccm P.-Serum: munter.

IV. Injektion: 27. XI. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Atmung beschleunigt.

Versuch 96.

Großes, trächtiges Kaninchen, seit etwa 14 Tagen trächtig.

15. X. 08. Entnahme von 4 Foeten, 4 andere werden zurückgelassen. Gewinnung von F.- und P.-Serum.

I. Injektion: 15. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Unruhe nach der Injektion, sonst munter.

II. Injektion: 16. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Ohne Erscheinungen.

III. Injektion: 24. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Ebenso.

9. XI. 08. Tot aufgefunden, nachdem es am Tage vorher munter war.

Versuch 97.

Mittelgroßes Kaninchen, seit etwa 3 Wochen trächtig.

15. X. 08. Entnahme von 3 Foeten, 3 werden zurückgelassen. Gewinnung von F.- und P.-Serum.

I. Injektion: 15. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 16. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Atmung beschleunigt. Sitzt anfangs ruhig, später unruhig, dann wieder munter.

III. Injektion: 24. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

IV. Injektion: 27. XI. 08. 2 ccm F.-Blut intravenös. Munter.

Versuch 98.

Mittelgroßes, trächtiges Kaninchen.

16. X. 08. Entnahme von 6 Foeten, Gewinnung an F.- und P.-Serum.

I. Injektion: 16. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Unruhe, sonst munter.

II. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Mattigkeit. Hervortretende Augen.

III. Injektion: 17. X. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Geringe Reaktion. 3 ccm P.-Serum intravenös, ohne Wirkung.

IV. Injektion: 24. X. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. 7 Minuten später Krämpfe und Exitus.

Sektion: Wunde reaktionslos geheilt; sonst ohne Befund.

Versuch 99.

Mittelgroßes Kaninchen, seit etwa 14 Tagen trächtig.

I. Injektion: 7. XI. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

II. Injektion: 21. VI. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Mattigkeit. Läßt sich auf die Seite legen, macht kranken Eindruck. Später munter.

III. Injektion: 14. XII. 08. 2 ccm P.-Serum intraperitoneal. Munter.

Versuch 100.

Trächtiges Kaninchen. 1 Foetus entnommen.

I. Injektion: 17. XI. 08. 1,5 ccm frisches F.-Blut von Versuch 101 intravenös. Duckt sich, ist unruhig, putzt sich andauernd die Nase und kaut immer. 1 Stunde später munter.

II. Injektion: 27. XI. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

III. Injektion: 14. XII. 08. 2 ccm F.-Serum intravenös. Munter.

Versuch 101.

Großes, hochträchtiges Kaninchen. Entnahme von 2 Foeten.

I. Injektion: 17. XI. 08. 2 ccm F.-Blut von Versuch 100 intravenös. Duckt sich. Atmung stark beschleunigt. 1 Stunde später munter.

II. Injektion: 27. XI. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

III. Injektion: 14. XII. 08. 2 ccm P.-Serum intravenös. Munter.

Versuchsresultate.

Aus den mit Meerschweinchen angestellten Versuchen 1 und 2 lassen sich keine Schlüsse ziehen. In den weiteren Vorversuchen 2 bis 7 wurde dann geprüft, ob das Serum junger, etwa 4 bis 6 Wochen alter Kaninchen irgendwelche Wirkung auf den Zustand älterer Tiere habe. Auch umgekehrt wurde die Einwirkung des Serums alter Kaninchen auf junge untersucht. In beiden Versuchsanordnungen waren keine nennenswerten Wirkungen zu beobachten; auch die zweite, nach 8 Tagen vorgenommene Injektion verlief wirkungslos, alle Tiere blieben munter. Es haben also auch wiederholte Injektionen des arteignen Serums verschieden alter Kaninchen keinen nachteiligen Einfluß auf den Zustand der Tiere.

Die weiteren Versuche befassen sich mit der Wirkung des foetalen Kaninchenserums auf das arteigne Tier, und zwar nach ein-, zwei- und mehrmaliger Injektion. Es ergab sich, daß das foetale Serum bei einmaliger Injektion (8 bis 29) in der Mehrzahl der Versuche ohne nachteilige Wirkung war; bei einzelnen Tieren traten jedoch leichtere oder schwerere Vergiftungssymptome auf. Die Häufigkeit dieser Erscheinungen steigerte sich ganz bedeutend bei den nach etwa 8 Tagen vorgenommenen zweiten Injektionen (30 bis 79). Weitere Injektionen hatten im allgemeinen keine steigernde Wirkung mehr (80 bis 101). Die Tatsache, daß die zweiten Injektionen der gleichen Serum-

menge nach Verlauf von mehreren Tagen eine erheblich verstärkte Wirkung auslöste, deutet auf die Verhältnisse der Anaphylaxie hin, wie sie sonst bei Injektionen von artfremdem Serum häufig beobachtet sind.

Als Vergiftungssymptome zeigten sich leichtere Krankheitserscheinungen, wie Unruhe, Mattigkeit, Lichtscheu, Aufgeregtheit, Unfähigkeit, sich aufrecht zu erhalten; dann die schwereren Symptome, wie völlige Lähmung der Extremitäten und hochgradige Schwäche sämtlicher Muskeln, die so weit geht, daß das Tier hilflos auf der Seite liegen bleibt und kein Glied mehr bewegen kann. Dabei geht Kot und Urin ab. Die Mattigkeit kann vorübergehend sein, aber auch stundenlang bestehen bleiben. Als weitere schwere Symptome treten klonische oder auch tonische Krämpfe auf, die vorübergehen können, wie z. B. in Versuch 82, aber in der Mehrzahl der Fälle zum raschen Exitus führen. Ferner wurde in manchen Fällen beobachtet, daß die Tiere andauernd niesen und sich dabei immer die Nase putzen. Weiter bestand starke motorische Unruhe, wobei die Tiere klägliche Schreie ausstießen. Außerdem wurde bei einzelnen Tieren beobachtet: Sträuben der Haare, dauernde Kaubewegungen und während der Krampfanfälle rasches Rotieren der Bulbi und tonische Krämpfe der Rückenmuskulatur.

Die Sektionsbefunde waren vielfach negativ. Häufig befanden sich Petechien auf der Pleura, dem Perikard, ferner auch bei einzelnen in den Tagen nach der Injektion gestorbenen Tieren seröse Ergüsse in die Pleura und das Perikard. Gerade dieser Befund deutet darauf hin, daß die Todesursache der nicht direkt im Anschluß an die Injektion gestorbenen und der sofort verendeten Tiere die gleiche ist. Die Erkrankungssymptome wie auch die Sektionsbefunde sind dieselben, die bei den an der Anaphylaxie gestorbenen Tieren berichtet werden. Es sei hier auch auf die von Behring berichteten paradoxen Giftwirkungen hingewiesen, daß Pferde, denen Diphtherie- oder Tetanustoxine injiziert waren, einige Wochen später tot im Stalle aufgefunden wurden. Der Tod dieser Tiere wird nicht auf eine einfache Toxinwirkung zurückgeführt, sondern auf Anaphylaxieerscheinungen. Immerhin soll die Möglichkeit zugegeben werden, daß bei einzelnen von unseren später gestorbenen Versuchstieren eine andere Todesursache in Betracht

kommen kann, obwohl positive Anhaltspunkte dafür nicht vorhanden sind.

Eine Gesamtübersicht über die Resultate nach allen Injektionen gibt die Tabelle I.

Tabelle I.

Zusammenfassung der gesamten Versuchsergebnisse.

	Gesamtzahl	Ohne Erscheinungen	Erscheinungen ohne Exitus		Krämpfe und Exitus kurz nach der Injektion	Exitus in den folgenden Tagen
			leichte	schwere		
I. Einmalige Injektion 8—29						
a) nichtträchtige Kaninchen . .	11	6	0	1	2	2
b) trächtige Kaninchen	11	5	0	0	4	2
II. Zweimalige Injektion 30—79						
a) nichtträchtige Kaninchen . .	42	10	8	11	7	6
b) trächtige Kaninchen	8	0	3	1	1	3
III. Mehrmalige Injektion 80—101						
a) nichtträchtige Kaninchen . .	15	6	4	2	3	0
b) trächtige Kaninchen	7	0	3	2	1	1
Summa	94	27	18	17	18	14

Danach hatten von 94 Kaninchen nur 27 keine Symptome, dagegen zeigten 67 Tiere = 71% ein positives Resultat. Von diesen positiv reagierenden Kaninchen gingen 18 (27%) sofort unter Krämpfen zugrunde, im ganzen 32, also etwa die Hälfte der Tiere (48%). Die übrigen 35 zeigten teils schwere (17), teils leichtere (18) Krankheitssymptome. Sie blieben aber am Leben. Es geht aus dieser Zusammenstellung die stärkere Wirkung des foetalen Serums auf die trächtigen Tiere hervor; während von den 68 nichtträchtigen Kaninchen in Summa 48 Tiere = 68% Krankheitssymptome zeigten, sind die Folgen der Injektion bei den trächtigen Tieren viel schwerere. Schon

von den 11 zum erstenmal gespritzten starben 6, davon 4 sofort unter Krämpfen und schweren Vergiftungssymptomen (siehe Versuche 21 ff.). Die übrigen 5 blieben gesund, sie wurden aus entstandenem Mangel an trächtigen Kaninchen nicht weiter behandelt. Alle übrigen trächtigen oder trächtig gewesenen Kaninchen (15), die zwei oder mehrere Male gespritzt wurden, zeigten Krankheitssymptome nach der zweiten oder auch erst nach einer weiteren Injektion. Es reagierten also von den 26 trächtigen Kaninchen 21 Tiere = 81% positiv, von den 15 wiederholt gespritzten Tieren zeigten aber alle geringere oder stärkere Krankheitssymptome. Etwa die Hälfte dieser Kaninchen ging an den Injektionen zugrunde; von 26 starben 12.

Wenn schon aus diesen Fällen hervorgeht, daß der Körper des Kaninchens durch die erste Injektion foetalen Serums weniger widerstandsfähig wird gegen eine zweite gleich große Dosis desselben Serums, daß also der Körper durch die erste Injektion sensibilisiert wird, so läßt sich diese Tatsache noch deutlicher aus den Tabellen II und III ersehen.

Tabelle II zeigt, daß auf die erste Injektion von den 94 Kaninchen 30 Tiere = 32% positiv reagierten, und zwar von den 68 nicht trächtigen Kaninchen 19 (28%) und von den 26 trächtigen 11 (43%).

Tabelle III gibt zum Vergleich Auskunft über den Ausfall der Reaktion nach der zweiten oder mehrfach wiederholten Injektion. Der Ausfall der ersten Reaktion wurde hier nicht berücksichtigt. Da zeigt sich nun, daß von den 72 Kaninchen nach der mehrmaligen Injektion 46 Tiere = 64% (nach der ersten Injektion nur 32%) erkrankten, und zwar von den 57 nicht trächtigen 26 Tiere = 46% (nach der ersten Injektion nur 28%) und von den 15 trächtigen alle 15 Tiere = 100% (nach der ersten Injektion nur 43%). Die Tiere sind also durch die erste Injektion anaphylaktisch für das foetale Serum geworden; während die erste Injektion in vielen Fällen überhaupt keine Vergiftungssymptome auslöste, hatte die nach 8 Tagen injizierte zweite, gleich große Dosis viel schwerere Folgen. In Versuch 30, 38, 47, 55, 59, 63, 67, 82, 83, 88 traten Krämpfe und Exitus ein, in anderen Fällen folgte der Tod des Versuchstieres plötzlich nach 8 Tagen (Nr. 68) oder auch nach 3 Wochen (50 und 52), während die Tiere bis dahin völlig

Tabelle II.

Wirkung der ersten Injektion.

	Gesamtzahl	Ohne Erscheinungen	Erscheinungen ohne Exitus		Krämpfe und Exitus	Später Exitus
			leichte	schwere		
I. Einmalige Injektion						
a) bei nichtträchtig. Kaninchen	11	6	0	1	2	2
b) bei trächtigen Kaninchen . .	11	5	0	0	4	2
II. Zweimalige Injektion						
a) bei nichtträchtig. Kaninchen	42	31	4	7	—	—
b) bei trächtigen Kaninchen . .	8	7	0	1	—	—
III. Mehrmalige Injektion						
a) bei nichtträchtig. Kaninchen	15	12	1	2	—	—
b) bei trächtigen Kaninchen . .	7	3	4	0	—	—
Summa	94	64	9	11	6	4

Tabelle III.

Wirkung der zweiten oder wiederholten Injektion.

	Gesamtzahl	Ohne Erscheinungen	Erscheinungen ohne Exitus		Krämpfe und Exitus	Später Exitus
			leichte	schwere		
II. Zweimalige Injektion						
a) bei nichtträchtig. Kaninchen	42	20	8	4	7	3
b) bei trächtigen Kaninchen . .	8	0	3	1	1	3
III. Mehrmalige Injektion						
a) bei nichtträchtig. Kaninchen	15	6	4	2	3	0
b) bei trächtigen Kaninchen . .	7	0	3	2	1	1
Summa	72	26	18	9	12	7

gesund waren. Von den früher trächtigen Tieren starben Nr. 73, 74, 75, 76, 96, 98 zum Teil direkt nach der Injektion oder auch plötzlich nach 4 Wochen, während bis dahin irgend eine Änderung im Zustand der Tiere nicht zu bemerken war. Schwere Vergiftungssymptome bestanden z. B. im Fall 14, 36, 41, 42, 43, 45, 49, 51, 56, 58, 77, 81, 82, 99 u. a.

Die durch die erste Injektion erworbene Überempfindlichkeit gegen das foetale Serum scheint nach den angeführten Versuchen am 8. Tage am stärksten zu sein, aber auch noch in den nächsten 4 Wochen fortzubestehen, da in vereinzelten Fällen die Versuchstiere innerhalb dieser Zeit plötzlich starben. Später wiederholte Injektionen hatten auf einzelne Tiere gar keinen Einfluß. Als erste Dosis zeigt sich besonders günstig eine Injektion von 2 ccm Serum. Einmal gegebene große Serummengen hatten auf den Zustand der Tiere keinen irgendwie stärkeren Einfluß. Auch wurden Reïnjektionen in den ersten Tagen in der Regel ohne jede Störung vertragen. Dieses alles sind Erscheinungen, wie sie auch sonst bei den Anaphylaxieversuchen beobachtet wurden; jedenfalls kann es sich nicht um einfache Intoxikation mit dem foetalen Serum analog der Wirkung der Alkaloide handeln, da sonst die Wirkung der Größe der Dosis proportional sein müßte.

Daß einzelne Tiere schon nach der ersten Injektion starben, läßt sich auch mit den Erscheinungen der Anaphylaxie in Einklang bringen. Beim Kaninchen, das vom Händler gekauft wird, besteht immer die Möglichkeit, daß das Tier kurz vorher erst trächtig gewesen ist. Es können bei diesen Tieren noch Veränderungen im Organismus vorhanden sein, die als Folgen der Trächtigkeit aufzufassen sind, deren Natur und Art wir noch nicht kennen.

Jedenfalls geht aus den Versuchen hervor, daß die trächtigen Tiere besonders stark auf das foetale Serum reagieren. Man kann nun annehmen, daß diese Tiere, wie Blumreich und Zuntz u. a. bewiesen haben, überhaupt weniger widerstandsfähig sind. Diese verstärkte Empfindlichkeit der trächtigen oder vor kurzem trächtig gewesenen Kaninchen ähnelt aber andererseits so sehr dem Zustande der durch einmalige Injektion sensibilisierten nichtträchtigen Tiere, daß es sehr nahe liegt, den Grund für beide Erscheinungen in derselben Ursache zu

suchen, nämlich in einem anaphylaktischen Zustande. Trächtige Tiere oder solche, die vor kurzem geworfen haben, können foetale Eiweißstoffe aufgenommen bzw. Antistoffe gegen diese gebildet haben. Diese würden dann, entsprechend der Annahme von Richet, Otto, Braun, Doerr mit dem neu injizierten Serum eine Reaktion eingehen, die die beschriebenen Krankheitssymptome hervorruft. Es würde demnach das trächtige Tier für das Serum seiner eigenen wie das anderer arteigener Foeten anaphylaktisch. Als Stütze für diese Ansicht dienen die Ergebnisse der Versuche 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 und andere, bei denen zum Teil das Serum der eigenen Foeten (23, 25), zum Teil anderes foetales Serum injiziert war. Drei dieser Kaninchen (20, 21, 26) waren vor der Injektion des Serums anderer Foeten die eigenen Jungen herausgenommen, zwei dagegen wurden gespritzt, ohne daß ihre Trächtigkeit gestört wurde.

Über die foetalen Eiweißstoffe, die zur Anaphylaxie führen, nähere Angaben zu machen, ist zurzeit noch nicht angängig. Außer dem foetalen Körpereiweiß könnten die gerinnungserregenden Stoffe hier eine Rolle spielen, da sie, wie bereits oben erwähnt, besonders stark im foetalen Blute vorhanden sind. Es würden allerdings nur diejenigen Stoffe in Betracht kommen, die im Serum bzw. im defibrinierten Blute enthalten sein können.

Zusammenfassung.

Der Katalasengehalt des foetalen Kaninchenblutes ist im allgemeinen bedeutend geringer als der des mütterlichen Blutes. Diese Tatsache ist wahrscheinlich für die Sauerstoffaufnahme und damit für den Stoffwechsel und das Wachstum des Foetus von besonderer Bedeutung.

Die intravenöse Injektion kleiner Mengen von foetalem Serum oder Blut verursacht bei trächtigen Kaninchen in den meisten Fällen geringere oder schwerere Krankheitssymptome, die besonders bei der Wiederholung der Injektion nach mehreren Tagen in starkem Maße hervortreten. Diese Symptome äußern sich in verschiedener Weise und können sich zu klonischen und tonischen Krämpfen steigern und zum Exitus führen. Bei nichtträchtigen erwachsenen Kaninchen ist die erste Injektion

meistens ohne Wirkung; dagegen veranlaßt eine etwa nach 8 Tagen wiederholte Injektion gleich starke Symptome wie bei trächtigen Tieren.

Diese Erscheinungen erinnern ganz an die infolge von Injektionen artfremden Serums eintretende Anaphylaxie. Auch zeigten die pathologischen Befunde Ähnlichkeiten mit den bei Anaphylaxie beobachteten. Es ist anzunehmen, daß das in seiner Zusammensetzung von dem mütterlichen abweichende foetale Eiweiß in dem mütterlichen Organismus die anaphylaktische Überempfindlichkeit hervorruft. Hierbei kommen wahrscheinlich auch im gewissen Grade die gerinnungserregenden Stoffe mit in Betracht.

Vermutlich sind auch beim Menschen analoge Unterschiede zwischen mütterlichem und kindlichem Kreislauf vorhanden. Da nun zwischen beiden eine Wechselwirkung stattfindet, so eröffnet sich eine Perspektive für die Ätiologie der Erkrankungen des mütterlichen Körpers während der Schwangerschaft. Auf Grund der hier mitgeteilten Beobachtungen und Erörterungen liegt der Gedanke nahe, die Schwangerschafts-Toxikosen, namentlich die Eklampsie, auf das Eindringen von unveränderten kindlichen Eiweißstoffen in den mütterlichen Organismus und dadurch entstehende Anaphylaxie zurückzuführen.

Die Nicht-Existenz des sogenannten „Protagons" im Gehirn.

Von

O. Rosenheim und M. Christine Tebb.

(Aus dem physiologischen Laboratorium des King's College, University of London.)

(Eingegangen am 6. März 1910.)

I.

Im sogenannten Protagon liegt eine Substanz vor, die unzweifelhaft von großem physiologischem Interesse wäre, wenn der Beweis ihrer chemischen Einheitlichkeit und ihrer Präexistenz im Gehirn feststände. Protagon läßt sich leicht aus Gehirn darstellen, jedoch nur bei Einhaltung gewisser Bedingungen. Wenn trotzdem bis zur Neuzeit kein nennenswerter Fortschritt in der Kenntnis dieser Substanz zu verzeichnen ist, liegt der Hauptgrund daran, daß der langjährige Streit um ihre Einheitlichkeit, der bis jetzt noch nicht endgültig entschieden ist, ein weiteres Studium verzögerte.

Es ist hier nicht der Platz, auf die ausführliche, in der Literatur wohl einzig dastehende, Geschichte des Gegenstandes einzugehen.[1]) Es genügt, zu erwähnen, daß das Produkt, dem Liebreich im Jahre 1865, von unberechtigten Anschauungen ausgehend, den Namen „Protagon" verlieh, nichts anderes ist als das schon im Jahre 1834 von Couerbe beschriebene „Cérébrote", das auch schon Vauquelin (1813) als sogenannte „weiße Materie", mit Cholesterin und anderen Lipoiden vermischt, unter Händen hatte. Trotzdem Thudichum schon 1874 klar die Natur des Protagongemenges erkannt hatte, trat später wieder Gamgee für die Einheitlichkeit des Protagons ein, gestützt auf einige Elementaranalysen, die bei dieser hochmolekularen Substanz ebenso wenig beweisend sind wie bei Eiweißkörpern. Seit den Arbeiten von Wörner und Thierfelder im Anfange dieses Jahrhunderts traten jedoch wieder neue Zweifel auf, die dann durch Posner und Gies (l. c.) begründet wurden. In Übereinstimmung mit diesen Autoren

[1]) Eine ausführliche Bibliographie bis zu 1904 findet sich bei Posner und Gies, Journ. of Biolog. Chem. 1, 111, 1905/06.

kamen Rosenheim und Tebb[1]) zur gleichen Zeit zu dem Schlusse, daß im Protagon, dargestellt nach all den bekannten und einem neuen Verfahren, eine veränderliche unbestimmte Mischung von Phosphatiden und Cerebrosiden (Galaktosiden) usw. vorliegt.[2])

Neuerdings wurde die Frage wieder in Fluß gebracht durch die Arbeit von Wilson und Cramer[3]). Diese Autoren versuchen gegenteilige Resultate durch die Annahme zu erklären, daß frühere Forscher entweder stark verunreinigtes oder zersetztes Material unter den Händen hatten. Zur Vermeidung dieser angeblich hydrolytischen Zersetzung durch absoluten Alkohol wurde von den genannten Autoren eine Modifikation der ursprünglichen Methode von Couerbe zur Darstellung von Protagon beschrieben, deren Hauptzweck darin besteht, die Extraktionsdauer mit kochendem Alkohol auf 1 bis 2 Minuten zu reduzieren. Das so dargestellte und weiter aus Alkohol umkrystallisierte Produkt soll durch seine chemischen und pkysikalischen Eigenschaften scharf als einheitliche Substanz charakterisiert sein. Elementaranalysen und Bestimmung der physikalischen „Konstanten" werden hierzu als ausreichend betrachtet, leider fehlt jedoch wieder ein rein chemischer Beweis der Einheitlichkeit. Dies ist um so mehr zu bedauern, da die an und für sich unwahrscheinliche hydrolytische Zersetzung durch absoluten Alkohol nur durch eine Änderung des Drehungsvermögens begründet wird. Solche physikalische Änderungen sind selbstverständlich vieler anderweitiger Erklärungen ungezwungen fähig.[4])

Diese Angaben wurden von anderer Seite nicht bestätigt,[5]) sind jedoch zum Teil schon in die neueren Lehr- und Handbücher übergegangen. Besonders in dem Abderhaldenschen Handbuch findet sich eine vollkommen einseitige Behandlung des Gegenstandes.[6]) Da das letztere Werk speziell eine zuverlässige Anleitung zu präparativen biochemischen Arbeiten bezweckt, können hierdurch grobe Irr-

[1]) Journ. of Physiol. 36, 1, 1907.

[2]) Da in der Literatur noch vielfach die Ansicht herrscht, daß Lecithin ein Bestandteil des Protagons sei, möge hier unsere gegenteilige Erfahrung konstatiert werden. (Siehe auch S. Fränkel, Ergebnisse der Physiologie 8, 250, 1909.)

[3]) Quart. Journ. of Exp. Physiol. 1, 97, 1908.

[4]) Vgl. hierzu das von uns entdeckte neue physikalische Phänomen der Sphärorotation von sogenanntem Protagon. Journ. of Physiol. 37, 348, 1908.

[5]) Gies und Cohen, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 5, 97, 1908; Rosenheim und Tepp, Quart. Journ. of Exp. Physiol. 1, 297, 1908.

[6]) Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. 2, 774, 1910. Die Darstellungen von Glikin und Peritz in C. Oppenheimers Handb. d. Biochem. (Glikin 1, 143; Peritz 2, 2, 287) sind frei von dieser Einseitigkeit.

tümer hervorgerufen werden. Bei der Bedeutung der Lipoide in der verwickelten Immunitätslehre ist es wünschenswert, die Verhältnisse nicht durch Benutzung von Lipoidgemischen noch mehr zu komplizieren. Unter diesen Umständen dürfte eine kurze Mitteilung an dieser Stelle über unsere Erfahrungen mit diesem, nach dem neuesten und angeblich sichersten Verfahren dargestellten Protagon nicht ohne Interesse sein, da sie die Annahme von der chemischen Individualität und der Präexistenz dieser Substanz im Gehirn unmöglich machen.

II.

Wir hatten keine Schwierigkeit, Produkte zu erhalten, deren Eigenschaften mit den von Wilson und Cramer beschriebenen vollständig übereinstimmten. Diese Tatsache spricht nicht zwingend dafür, daß einheitliche chemische Individuen vorliegen, da bei Anwendung derselben Methode stets dieselben Gemische ausfallen können. Ebenso wenig sprechen dafür die mehr oder weniger übereinstimmenden Resultate der Elementaranalysen.[1]) Von physikalischen Konstanten kann bei solchen komplizierten Lipoiden nicht die Rede sein, ehe ihre chemische Einheitlichkeit unzweifelhaft feststeht.

Da es sich beim Protagon um eine Substanz handelt, die leicht bei Einhaltung gewisser Bedingungen umkrystallisiert werden kann, sind zur Entscheidung der Frage ihrer Einheitlichkeit offenbar die gewöhnlichen Methoden heranzuziehen, wie Umkrystallisieren aus wechselnden Mengen desselben oder verschiedener Lösungsmittel, oder aus einem Gemisch solcher; ferner fraktionierte Krystallisation und Vergleichung der chemischen und physikalischen Eigenschaften der Fraktionen miteinander und mit der ursprünglichen Substanz. Merkwürdigerweise sind diese auf der Hand liegenden Methoden von den Vertretern der Einheitlichkeit des Protagons nicht angewandt worden, jedenfalls weil, wie dies auch S. Fränkel[2]) in seiner Monographie über die Gehirnchemie hervorhebt, schließlich aus

[1]) Die Übereinstimmung der in der Literatur verzeichneten Analysen von Protagon ist so gering, daß schon früher zur Rettung des Protagonbegriffs die Annahme von mehreren Protagonen („Homoprotagon") nötig wurde. Die Auffassung der Substanz als eines Gemisches liefert auch hier eine natürliche und ungezwungene Erklärung.

[2]) Ergebn. d. Physiol. 8, 212, 1909.

großen Mengen der weißen Materie nur gerade für die Analyse hinreichende Mengen erhalten wurden.[1])

Zu unseren Versuchen benutzten wir „reines" Protagon, das nach peinlichster Befolgung der veröffentlichten Vorschriften aus „geringen" Mengen kochenden Alkohols 4 und 5mal umkrystallisiert worden war. Wie wir schon früher zeigten, fallen unter diesen Umständen (verbunden mit dem Abkühlen auf Eis) die Bestandteile der Mischung wieder in demselben Verhältnis aus, wie ursprünglich vorhanden. Sobald aber eine etwas größere Menge Alkohol zur Lösung benutzt wird, die zur Vermeidung der hypothetischen Zersetzung im Verlaufe der vorgeschriebenen Zeit bewirkt wurde, besitzt das durch Abkühlung mit Eis auf Zimmertemperatur erhaltene Produkt eine vollständig andere Zusammensetzung als das ursprüngliche Protagon. Es wird schließlich fast phosphorfrei erhalten, während das Ausgangsmaterial 1% P besitzt. In entsprechendem Maße steigt der Phosphorgehalt des im Filtrate enthaltenen Produktes.

Noch schlagender werden die Resultate, wenn an Stelle von Alkohol ein Lösungsmittel wie Pyridin oder ein Gemisch von verschiedenen Lösungsmitteln benutzt wird. Da Pyridin bei 36° C keine Änderung der optischen Aktivität des Produktes herbeiführt, ist ein zersetzender Einfluß bei der kurzen Dauer der Umkrystallisation ($1^1/_2$ Min.) nicht zu befürchten, ebenso wenig wie bei den übrigen neutralen Lösungsmitteln, wie Chloroform, Essigester usw. Unter diesen Umständen lassen sich nach Belieben Produkte erzielen, deren Phosphorgehalt von 0,07 bis 3,13% variiert.

Es wäre denkbar und ist auch a priori nicht von der Hand zu weisen, daß die Lipoide, die das Gemisch Protagon bilden, im Gehirn annähernd in demselben Mengenverhältnis wie im Protagon, in loser salzartiger Bindung oder als physikalisches Gemisch (etwa wie Aminosäuren und Polypeptide im Pepton), vorhanden sind. Leider wird auch diese Annahme durch das Experiment unhaltbar gemacht. Es läßt sich leicht experimentell zeigen, daß Protagon im Gehirn nicht präformiert

[1]) Unserer Bitte um Überlassung einer kleinen Quantität von Protagon zu Vergleichszwecken konnte Dr. Cramer wegen Mangels an Material nicht nachkommen.

existiert. Nach Cramer[1]) lassen sich auch andere Lösungsmittel als Alkohol zur Extraktion des Protagons aus Gehirn benutzen, obwohl nach ihm Alkohol die besten Ausbeuten gibt. Auch hier hängt es nach unseren Versuchen einzig und allein von der Quantität des Lösungsmittels ab, um nach Belieben ein Gemisch von der Zusammensetzung des Protagons oder anderer phosphorärmerer oder phosphorreicherer Gemische darzustellen, die sich ebenso wie Protagon bei Einhaltung gewisser Bedingungen unverändert umkrystallisieren lassen.

Da das Protagon selbst ein Gemisch von Phosphatiden und Galaktosiden usw. ist, wäre es absurd, diese Resultate der Verunreinigung des Gemisches mit diesen Substanzen zuzuschreiben. Ebenso wenig läßt sich die schon von Gamgee aufgegebene Zersetzungstheorie heranziehen, da alle diese Resultate eben unter Vermeidung einer solchen hypothetischen Zersetzung erhalten wurden. Eine natürliche und ungezwungene Erklärung findet sich darin, daß die Lipoide des Gehirns nicht in chemischer Verbindung miteinander vorkommen,[2]) und daß daher durch eine Variation der Quantität des Lösungsmittels wechselnde Gemenge von Phosphatiden, Galaktosiden usw. in Lösung gehen, resp. beim Abkühlen in Lösung gehalten oder abgeschieden werden. Alle diese Gemenge lassen sich bei Einhaltung gewisser Bedingungen umkrystallisieren, ohne eine wesentliche Änderung ihrer Zusammensetzung oder physikalischen Eigenschaften zu erfahren. Keines dieser Produkte, ebenso wenig wie das Protagon selbst, kann aus diesem Grunde als präformiert oder als chemisches Individuum bezeichnet werden, da sein Charakter als Gemenge bei jeder Änderung in der Quantität oder Natur des Lösungsmittels klar zutage tritt.

Wenn diese Ansicht richtig ist, sollte es möglich sein, durch einfache mechanische Mischung der aus dem Gehirn isolierten Phosphatide und Galaktoside usw. künstlich ein „reines" Protagon zu rekonstituieren. Wie wir schon früher (l. c.) zeigten, läßt sich in der Tat ein solches „künstliches Protagon" unter den-

[1]) l. c. S. 780.

[2]) Dies spricht selbstverständlich auf keine Weise gegen die Auffassung, daß die Lipoide als Kolloide in physikalischer Bindung (adsorbiert) untereinander oder mit Eiweißkörpern und Zuckern als biochemisches Ganzes in der Zelle vorhanden sind.

selben Bedingungen wie Protagon unverändert umkrystallisieren und besitzt alle die chemischen und physikalischen Eigenschaften des „reinen" Protagons. (Gleiches Drehungsvermögen, Zusammensetzung [Elementaranalysen], Lösungsverhältnisse usw.)

Wir sind daher zu dem Schlusse gezwungen, daß Protagon kein einheitliches chemisches Individuum ist, und nicht präformiert im Gehirn existiert, sondern ein bei Einhaltung gewisser Bedingungen erhaltbares Kunstprodukt darstellt.

III.

Experimentelles.

Die Darstellung von Protagonpräparaten von einigermaßen konstanter Zusammensetzung gelingt nur, wenn die Quantität des zum Umkrystallisieren benutzten absoluten Alkohols auf ein Minimum beschränkt und durch Abkühlung der Lösung auf Eis eine Trennung der Bestandteile verhindert wird. Unter Einhaltung dieser Bedingungen stellten wir nach der Wilson-Cramerschen Modifikation von Couerbes Verfahren verschiedene Protagonpräparate dar, die alle die verlangten chemischen und physikalischen Eigenschaften des „reinen, unzersetzten" Protagons zeigten. Trotzdem nach Cramer drei Krystallisationen genügend sind, um reines Protagon (frei von Cerebron?) zu erhalten, krystallisierten wir in einem Fall sogar 5 mal um. Man kann natürlich die Krystallisation beliebig oft fortsetzen, da unter diesen Bedingungen das Mischungsverhältnis der im Protagon enthaltenen Lipoide annähernd konstant bleiben muß.

In der folgenden Zusammenstellung sind zum Vergleiche die Elementaranlysen, die für die Einheitlichkeit des Protagons als beweisend gehalten wurden, zusammen mit den von uns erhaltenen angeführt. Unsere Produkte besaßen alle das von uns schon früher an anderen Präparaten bestimmte optische Drehungsvermögen von $[\alpha]_D^{20} = +6{,}8°$ (in einer Mischung von Methylalkohol und Chloroform). In 3% Pyridinlösung schwankte es von $+6{,}6°$ bis zu $+7{,}7°$. Von Cramer (l. c.) wird ein Drehungsvermögen von $[\alpha]_D^{20} = +6{,}8°$ (Pyridin) als charakteristisch für Protagon angesehen.[1])

		C%	H%	N%	P%	S%	
Cramer (1904)		66,35	10,98	2,29	1,04	0,71	
„ „Homoprotagon" .		64,69	10,83	2,54	1,16	0,61	
Wilson und Cramer (1908)		66,50	10,93	2,42	0,96	0,70	
Eigene Analysen	Protagon I 3 mal umkryst.	65,57	10,91	2.20	0,98		+
	„ II 3 mal „	66,20	11,50	2,20	1,12		+
	„ III 5 mal „	67,34	11,36	1,96	0,98		+
	„ IV (nach Couerbe)	64,58	10,74	2,29	0,99	0,65	

[1]) Wir zeigten schon früher (l. c.), daß das Drehungsvermögen von Protagonfraktionen von $+2{,}7°$ bis zu $+7{,}5°$ schwankt.

Sprechen schon die unaufgeklärten Unterschiede in den Kohlenstoffzahlen (bis zu 2,8%), die in der Protagonliteratur nichts Ungewöhnliches sind,[1]) gegen die Einheitlichkeit dieser Substanz, so kommt dies noch schlagender zum Ausdruck, wenn man das reinste Protagon einer weiteren Krystallisation aus etwas größeren Quantitäten Alkohol unterwirft, wobei wie vorher jede Zersetzung vermieden wird.

In den folgenden Versuchen wurde ein „reines", 4mal aus kleinen Quantitäten Alkohol umkrystallisiertes Protagon, das 1,00% P enthielt, nochmals 4mal aus größeren Quantitäten umkrystallisiert, wobei die Lösung, die innerhalb 1 Minute bewirkt wurde, sofort auf Eis bis auf Zimmertemperatur abgekühlt wurde. Das Endprodukt, das also 8mal umkrystallisiertes Protagon darstellt, hatte nur 0,17% P.

Die folgenden Resultate wurden bei den einzelnen Krystallisationen erhalten:

Reines Protagon (4mal umkryst.)	1,00% P,
1. Krystallisation	0,70 „ „
3. „	0,31 „ „
4. „	0,17 „ „
Fraktion aus den Filtraten[2]) . .	2,74 „ „

Ganz analog sind die Resultate einer weiteren Krystallisation des „reinsten" Protagons III, dessen Elementaranalyse oben angeführt ist.

Reines Protagon (5mal umkryst.)	0,98% P,
1. Krystallisation	0,66 „ „
5. „	0,27 „ „
7. „	0,13 „ „
Fraktion aus den Filtraten[2]) . .	2,54 „ „

Selbstverständlich ist es auch möglich, selbst bei 10fachem Umkrystallisieren die Zusammensetzung des Protagons annähernd konstant zu erhalten, solange man nur dafür sorgt, daß durch Anwendung kleinster Quantitäten Alkohol und durch starke Abkühlung auf Eis eine Verschiebung des Mischungsverhältnisses nicht stattfinden kann. Wir hielten es für unnötig, diesen Versuch, der große Quantitäten Material erfordert, zu wiederholen, da ein analoger Versuch (Krystallisation aus verdünntem Alkohol bei 45°) schon von Posner und Gies (l. c.) ausgeführt wurde. Dort wurde auch schon durch fraktionierte Krystallisation des 10mal umkrystallisierten Protagons der Beweis geliefert, daß das Endprodukt ein Gemisch ist. Der Einwand Cramers (l. c.), daß die zu lange Behandlung mit Alkohol eine „Zersetzung" herbeigeführt habe, ist jetzt unhaltbar, da nach den oben mitgeteilten Versuchen dasselbe Resultat unter Be-

---

[1]) Noch frappanter sind die in der Literatur verzeichneten Zahlen für Stickstoff und Schwefel. Eine vollständige Zusammenstellung aller publizierten Protagonanalysen findet sich bei Rosenheim und Tebb, Quart. Journ. of Physiol. 2, 317, 1909.

[2]) Die Mutterlaugen der 1. und 2. Krystallisation wurden im Vakuum verdunstet.

dingungen erhalten wird, die eine Zersetzung in dem angegebenen Sinne unmöglich machen.

Wird zur Umkrystallisation Pyridin oder ein Gemisch von Lösungsmitteln benutzt, so läßt sich eine Trennung in phosphorreiche und phosphorarme Produkte schon durch eine einzige Krystallisation erzielen. Die Lösung erfolgte bei einer Temperatur von 30° bis 40° C innerhalb 1 bis 2 Minuten. Wir verzichten auf die Wiedergabe der zahlreichen Analysen, die wir an den verschiedenen Präparaten von Protagonen erhalten haben, da sie alle analoge Resultate ergaben. Als Lösungsmittel wurden Gemische benutzt von: Tetrachlorkohlenstoff, Trichloräthylen, Chloroform, Alkohol, Essigester, Aceton und Pyridin. In der folgenden Tabelle sind einige Resultate zusammengestellt.

Lösungsmittel	Protagon I P%	Protagon II P%	Protagon III P%
Trichloräthylen-Essigester (1:3)	0,36	—	—
Chloroform-Eisessig (1:2)	0,13	0,09	0,07
Pyridin	2,11	3,13	2,68
Aus Filtrat bei ± 0°[1])	0,07	—	0,10
Ursprüngliches Protagon	0,98	1,12	0,98

Als Beweis für die Existenz des Protagons als solches im Gehirn würde es sprechen, wenn es gelänge, durch Variation des Lösungsmittels konstant dasselbe Produkt zu erhalten, wie dies z. B. beim Cholesterin möglich ist. Dies ist jedoch nicht der Fall, wie der folgende Versuch beweist: 1 kg Schafhirn wurden wie üblich durch Behandlung mit kaltem Alkohol und Äther als trockenes Pulver erhalten. 100 g des Pulvers wurden mit 240 ccm heißem Alkohol, dem 60 ccm Chloroform zugesetzt waren, 1½ Minuten lang behandelt. Das nach sofortiger Eiskühlung aus dem Filtrat erhaltene Rohprodukt wurde, nach dem Waschen mit Äther und Trocknen in vacuo, aus dem gleichen Lösungsmittel innerhalb 1½ Min. umkrystallisiert. Eine Phosphorbestimmung ergab nur 0,55% P (Protagon = 1% P). Nochmaliges Umkrystallisieren unter gleichen Bedingungen änderte den P-Gehalt nur wenig (P = 0,44%).

Aber selbst wenn genau nach der Wilson-Cramerschen Vorschrift mit Alkohol gearbeitet wird, erhält man bei Benutzung etwas größerer Quantitäten Alkoholprodukte, die von Protagon vollständig verschiedene Zusammensetzung haben. Aus 3,2 kg Ochsenhirn wurden nach Wilson-Cramer 30,4 g Rohprodukt erhalten. Dieses wurde aus 500 ccm absolutem Alkohol nach Vorschrift umkrystallisiert und das erhaltene Produkt nochmals auf dieselbe Weise behandelt. (In beiden Fällen blieb ein Teil als wachsartige phosphorarme Masse ungelöst, die von Cramer als zu entfernende Verunreinigung angesehen wird.) Das Produkt war nach der zweimaligen Krystallisation klar und schnell in kochendem Alkohol löslich, nach Cramer ein Zeichen, daß Protagon frei von Cere-

[1]) Nach dem Abfiltrieren eines durch 2 Volumen Aceton bewirkten leichten Niederschlags.

bron vorliegt. Sein Phosphorgehalt jedoch betrug nur 0,44%. Auch dieses Produkt änderte seine Zusammensetzung nur wenig bei weiterer Krystallisation aus geringen Quantitäten Alkohol.

Zusammenfassung.

Es steht ziemlich sicher fest und ist im Einklang mit modernen Anschauungen, daß die Lipoide des Gehirns in inniger Verbindung mit den Eiweißkörpern der Zellen vorhanden sind.[1]) Zur Annahme jedoch, daß hierbei das Protagon als chemisches Individuum beteiligt ist, liegt nach den obigen Resultaten nicht der geringste Grund vor. Bei dem vorwiegend kolloidalen Charakter dieser komplizierten Lipoide ist das Bestreben, sie chemisch rein zu erhalten, so wenig aussichtsreich wie bei den Eiweißkörpern, abgesehen davon, daß es uns keinen Aufschluß über ihre Konstitution gibt. Wie bei den Eiweißkörpern, so kann auch hier nur vollständige Hydrolyse zum Ziele führen. Es scheint daher angebracht, den 45jährigen, unprofitablen Streit über die Einheitlichkeit des Protagons endlich fallen zu lassen und lieber durch das Studium der hydrolytischen Spaltprodukte der einzelnen Komponenten Aufschluß über ihre Zusammensetzung zu erhalten. Für den phosphorfreien Bestandteil des Protagongemisches haben die Untersuchungen von Thierfelder im großen ganzen die Resultate Thudichums bestätigt, während wir zurzeit mit der Untersuchung der phosphorhaltigen Bestandteile, speziell des Sphingomyelins[2]), beschäftigt sind.

Die von Liebreich eingeführte Bezeichnung „Protagon" hat schon längst jede Berechtigung verloren, da sich die will-

---

[1]) Siehe auch: Steel und Gies, Paranucleoprotagon. Am. Journ. of Physiol. 20, 378, 1907. — Lipoid-Proteinverbindungen spielen auch nach Landsteiner und Raubitschek (diese Zeitschr. 15, 44, 1909) vielleicht eine Rolle bei dem Giftbindungsvermögen des Gehirns für Tetanustoxin. Nachdem Landsteiner und Botteri (Centralbl. f. Bakt. 42, 562, 1908) zuerst den Beweis brachten, daß hierbei Lipoide, nämlich die als Protagon bezeichnete Substanz beteiligt ist, konnte Takaki (Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 288, 1908) zeigen, daß nicht die Phosphatide, sondern die Galaktoside, speziell das Phrenosin, die wirksamen Substanzen sind.

[2]) Vgl.: Rosenheim und Tebb, The lipoids of the brain I. Sphingomyelin. Proc. Physiol. Soc. 38, 51, 1909.

kürliche Annahme dieses Produktes als der Muttersubstanz aller Gehirnlipoide bald als irrig erwies. Die Einheitlichkeit des Protagons läßt sich nach den obigen Resultaten nicht mehr aufrecht erhalten, und da ferner das Produkt nicht als solches im Gehirn (und in anderen Organen) vorhanden ist, dürfte es angebracht sein, den Namen „Protagon" wie den seines Vorgängers „Cérébrote" nur im historischen Sinne zu benutzen.[1])

[1]) Vgl.: Proposals for the nomenclature of the lipoids. Biochem. Journ. 4, 317, 1909. — Es kann Liebreich der Vorwurf nicht erspart werden, daß er durch die Aufstellung des Protagonbegriffs auch hier wie in einem andern Falle (siehe Unna und Golodetz, diese Zeitschr. 20, 470, 1909) viel dazu beigetragen hat, den Fortschritt unserer physiologischen Kenntnis des Gehirns zurückzuhalten. Thudichum sagte schon richtig vor fast 25 Jahren: „Bedenkt man den Betrag von Arbeit, den diese falschen Tatsachen schon verursacht haben, und den ihre endliche Hinwegschaffung aus der Literatur noch verursachen wird, so kann man nicht bezweifeln, daß sie bei weitem mehr Schaden als Nutzen gestiftet haben." (Grundzüge der anatom. u. klin. Chem., Berlin 1886, S. 229.

Ein Beitrag zur Analyse des Gehirns, insbesondere über den Cholesterin- und Fettsäurengehalt desselben.

Von

Niro Masuda.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Tokio.)

(Eingegangen am 10. März 1910.)

Es ist bekannt, daß das Zentralnervensystem unter allen Geweben und Organen am reichsten an Cholesterin ist. Demzufolge gibt es eine ganze Reihe Cholesterinbestimmungen für die Gehirnsubstanz. Leider sind alle bisherigen Methoden der Cholesterinbestimmungen nicht ganz fehlerfrei. So leidet die allgemein gebräuchliche Methode, bei der man das Cholesterin aus der gepulverten Seifenmasse mit Äther auszieht, daran, daß das in der relativ gröberen Pulvermasse eingeschlossene Cholesterin nur ganz ungenügend in den Äther übergeht. Bei anderen Methoden, bei denen man die alkalische Seifenlösung mit Äther ausschüttelt, geht außer Cholesterin die infolge der hydrolytischen Dissoziation der Seifenlösung frei gewordene Fettsäure selbst bei stark alkalischer Reaktion in nicht unbeträchtlicher Menge in den Äther über, und das Cholesterin wird damit verunreinigt. Da die Menge des Cholesterins in der Regel für eine Bestimmung sehr klein ist, so kann der Fehler infolge der Beimengung der freien Fettsäure sehr groß werden. Kumagawa und Suto[1]) haben bei der Ausarbeitung ihrer Fettbestimmungsmethode diesen Punkt unter Benutzung von reiner Ölsäure und reinem Cholesterin in eingehender Weise geprüft und dort ein neues Verfahren angegeben, wonach nunmehr eine einwandfreie Trennung von Cholesterin (inkl. „unverseifbarer Substanz") und Fettsäuren ganz glatt erfolgt. Das Verfahren selber ist einfach folgendes:

[1]) M. Kumagawa und K. Suto, Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Fettes und der unverseifbaren Substanzen im tierischen Material. Diese Zeitschr. 8, 212.

Die nach ihrer Verseifungsmethode dargestellten Fettsäuren werden im Scheidetrichter mit etwa 50 bis 70 ccm Petroläther aufgenommen Hierzu wird $^n/_5$ absolut alkoholische Kalilauge in 30 bis 40facher Menge des Fettsäuregemenges zugesetzt und gut gemischt. Wird nun durch den Zusatz von ebenso viel Wasser die Konzentration des Alkohols auf etwa 50% herabgesetzt, so erfolgt eine glatte Trennung in eine obere Petrolätherund eine untere Alkoholwasserschicht. Die getrennte untere Schicht wird noch einmal mit 30 bis 40 ccm neuen Petroläthers geschüttelt. Die vereinigten Petrolätherextrakte enthalten die Gesamtmenge Cholesterin mit etwas Fettsäure verunreinigt. Um sie von dieser zu befreien, wird der Auszug in wenig Alkohol aufgelöst, mit 0,5 bis 1,0 ccm $^n/_{10}$ alkoholischer Natronlauge versetzt, verdunstet und bei 100° C gut getrocknet. Wird der Rückstand noch heiß mit Petroläther extrahiert, so ist das Filtrat ganz frei von Fettsäuren und enthält die Gesamtmenge unverseifbarer Substanz in ganz reiner Form. Auch läßt sich die Menge der hohen Fettsäuren im tierischen Gewebe erst durch das neue Verfahren von Kumagawa und Suto ganz richtig ermitteln.

Bei dieser Sachlage erschien es mir wünschenswert, den Gehalt der Gehirnsubstanz an hohen Fettsäuren und Cholesterin (unverseifbarer Substanz überhaupt) nach Kumagawa-Sutoscher Methode von neuem zu prüfen. Im Laufe der Versuche habe ich jedoch meine Prüfungen auch auf den Wasser-, Aschen-, Stickstoff- und Phosphorgehalt der Gehirnsubstanz ausgedehnt. Als Material habe ich frische Gehirne von zwei Menschen, von einem Rinde, von einem Pferde und einem Schweine benutzt. Die Tiere waren durchaus gesund. Die Menschengehirne stammen von einem phthisischen Manne, der ohne Komplikation an Marasmus starb, und von einem an Schenkelgangrän leidenden Manne, der nach der Operation plötzlich starb. Die gleich nach der Eröffnung des Schädeldaches sorgfältig herausgenommene Hirnmasse wurde mit einem trockenen Tuche zwecks Entfernung von Blut und seröser Flüssigkeit abgewischt und in toto gewogen. Sodann ließ sich die Pia mater nebst anhängenden Gefäßen mit sauberem Finger und einer Pinzette von der Gehirnoberfläche sehr leicht und glatt ablösen. Das Ganze wurde nun in 3 Teile, nämlich in Großhirn, Kleinhirn und Mittelhirn (basaler Teil mit Pons und Schenkel), getrennt und jedes für sich abgewogen. Diese so getrennten Hirnmassen wurden in Alkohol von 95% gelegt, und derselbe wurde im Laufe von 3 Tagen 3mal erneuert. Alkohol sowie Hirnmasse wurden anfangs getrennt auf dem Wasserbade verdunstet, dann beide vereinigt, zerkleinert und weiter getrocknet. Von dem

Großhirne der Menschen wurde nur ein Teil des Gemenges weiter verarbeitet. Schließlich wurde die lufttrockene Masse gut gemischt, zu Pulver zerrieben und ein aliquoter Teil davon in Wägegläschen eingeschlossen. Da die Hirnmasse hygroskopisch war, wurden die einzelnen Proben in Mengen von etwa 0,5 bis 1,0 g an trockenen Tagen auf indirektem Wege genau abgewogen.

Bemerkungen zu den Analysen.

Fettsäurebestimmung. Als ich am Anfange etwa 1,0 g jenes Pulvers nach Kumagawa-Suto direkt verseifte, war die Trennung der ätherischen und wässerigen Schicht sehr schlecht, indem beim Ausschütteln des angesäuerten Verseifungsgemisches mit Äther eine emulsionsartige Zwischenschicht entstand, die sich sehr schwer zum Verschwinden bringen ließ. Nach vielem Durchprobieren konnte ich mich davon überzeugen, daß die Substanz, in kleinerer Menge als 0,5 g zur Analyse genommen, ein glattes Resultat ergibt, wenn man dafür Sorge trägt, daß man beim Hineinbringen der verseiften Masse in den Scheidetrichter möglichst wenig Wasser zum Ausspülen des Becherglases nimmt und nach gutem Schütteln der angesäuerten Flüssigkeit mit Äther bis zum nächsten Tage ruhig stehen läßt. Das übrige Verfahren richtete sich genau nach der Vorschrift.

Wasser- und Aschenbestimmung. Etwa 1 g Substanz wurde, wie üblich, in einer Platinschale bei 100° C bis zur Gewichtakonstanz getrocknet. Die Gewichtsabnahme wurde als Wasser berechnet. Alsdann wurde die Substanz ganz allmählich verascht und mit warmem Wasser ausgezogen. Der Rückstand, der unlösliche Asche enthält, ließ sich erst durch Zuhilfenahme konzentrierter Salpetersäure vollständig veraschen. Wegen des großen Gehaltes der Substanz an Phosphor hat die Aschenbestimmung nach der angeführten Art hier nur wenig Bedeutung.

Die **Phosphorbestimmung** wurde durch Veraschen mittels Salpetermischung und durch Überführung in Magnesiumpyrophosphat bestimmt.

Der **Stickstoff** wurde nach **Kjeldahl** bestimmt.

In den nachfolgenden Tabellen sind alle Zahlen in den Mengen des frischen, wasserhaltigen Gehirns angegeben.

Es wäre wünschenswert gewesen, graue und weiße Gehirnsubstanz getrennt zu analysieren. Da indessen zurzeit eine quantitative Isolierung der beiden Substanzen unmöglich ist, so mußte ich mich bei dieser Untersuchung mit der obigen Dreiteilung begnügen. Demnach sind die unten tabellarisch angegebenen Zahlen leider nicht mit den bisher bekannten Werten in Vergleich zu bringen, weil die meisten Angaben auf graue und weiße Substanz getrennt Bezug nehmen. In einem

so verwickelten Gebiete der Chemie des Hirns, wo die einzelnen Konstituenten zum Teile noch unbekannt sind und von einer quantitativen Isolierung der wesentlichen Bestandteile zurzeit noch keine Rede ist, halte ich es für eine nicht nutzlose Arbeit, Untersuchungen von verschiedenen Gesichtspunkten aus vorzunehmen.

Übersichtstabelle.

		Feuchtes Gehirn in toto	Gewicht der drei Gehirnteile	Wasser	Trockensubstanz	Gesamt-N	Gesamt-P	Hohe Fettsäuren. Cholesterin + unverseifbarer Subst.	Gesamtasche. Unlösliche Asche
		g	g	%	%	%	%	%	%
Mensch I	Großhirn	1291,1	1120,85	86,45	13,55	1,057	0,1838	2,181 1,675	0,8336 0,2859
	Kleinhirn		127,00	86,36	13,64	1,281	0,1593	1,774 1,135	0,8873 0,2851
	Mittelhirn		42,15	81,69	18,31	1,299	0,2638	2,882 2,248	0,8368 0,1767
Mensch II	Großhirn	1133,0	949,60	76,56	23,44	2,758	0,3324	6,823 3,517	1,4260 0,4688
	Kleinhirn		111,02	81,13	18,87	2,034	0,2829	3,072 1,987	1,1491 0,3085
	Mittelhirn		71,25	75,69	24,31	2,598	0,3437	7,658 4,304	1,8003 0,4218
Rind	Großhirn	417,4	309,26	81,69	18,31	1,490	0,2545	3,455 2,507	1,2522 0,2834
	Kleinhirn		40,95	81,32	18,68	1,380	0,2760	3,591 3,142	1,3160 0,2401
	Mittelhirn		66,28	73,80	26,20	1,659	0,4002	6,114 4,455	1,1971 0,3745
Pferd	Großhirn	493,2	366,22	79,61	20,39	1,619	0,2813	3,819 3,036	1,8890 0,3612
	Kleinhirn		60,56	78,49	21,51	1,700	0,2971	4,421 3,105	1,7797 0,4113
	Mittelhirn		65,55	73,15	26,85	1,607	0,3736	5,836 4,454	1,4970 0,4415
Schwein	Großhirn	106,6	76,77	80,91	19,09	1,558	0,2743	3,989 2,508	1,7312 0,2535
	Kleinhirn		9,85	79,52	20,48	1,542	0,2824	2,796 2,767	1,6720 0,3734
	Mittelhirn		18,93	75,17	24,83	1,646	0,3480	4,922 4,109	1,4275 0,4381

Über das Vorkommen eisenhaltiger Lipoide in der Milz.

Vorläufige Mitteilung.

Von

Robert Burow.

(Aus dem k. k. pharmakologischen Institute der Universität Innsbruck.)

(Eingegangen am 14. März 1910.)

Zurzeit wird dem Studium der organischen Phosphorverbindungen als wesentlichem und wichtigem Bestandteil der Zellipoide von allen Zweigen der Medizin bedeutendes Interesse entgegengebracht und nicht mit Unrecht. Die Lipoide bilden keine unwesentlichen, an der physiologischen Leistung der Zelle unbeteiligten Nebenbestandteile, sondern sie sind ganz im Gegenteil wesentliche Lebenselemente des Zellprotoplasmas und spielen gewissermaßen als Träger des Lebens eine wichtige Rolle beim Ablauf der Lebensvorgänge. Entziehen wir beispielsweise Tieren aus der Nahrung die Lipoide mittels Äther oder Alkohol, so gehen dieselben alsbald zugrunde, woraus wir schließen müssen, daß die Lipoide, die wir schon mit der Nahrung aufnehmen, zur Unterhaltung des Lebens notwendig sind.

Auf einem Gemisch der Lipoide beruht ferner die allen lebenden Zellen eigentümliche Semipermeabilität, eine Eigenschaft, nur solche Stoffe durch einfache Osmose aufzunehmen und durch sie hindurch zu lassen, die in einem Gemisch dieser Zellipoide löslich sind. Durch diese Tatsache können wir uns auch die Wirkung gewisser Arzneimittel, wie z. B. der Anästhetika, erklären, deren Zahl ja sehr groß ist und die verschiedenartigsten Substanzen umfaßt, wie: flüchtige Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Aldehyde, Ketone, Äther, Ester, Säureamide und Anhydride, Sulfone und zahllose andere, die alle

nur das eine gemeinsam haben, chemisch indifferent und lipoidlöslich zu sein und eben durch letztere Eigenschaft in die Zelle dringen und ihre narkotische Wirkung entfalten, und zwar unzersetzt ohne chemische Wechselwirkung und die ihre narkotische Kraft verlieren, sobald sie eine physikalische Änderung erleiden, die sie lipoidunlöslich macht. Es würde zu weit führen, auf alle diese interessanten Untersuchungen im Detail näher einzugehen; ich wollte damit nur andeuten, daß das Studium der Zellipoide auch für den Pharmakologen von zunehmender Bedeutung ist in bezug auf diejenigen Arzneimittel, deren Wirkung im Organismus bis heute noch in Dunkel gehüllt ist.

Für dieses Studium ist es natürlich in erster Linie erforderlich, die Lipoide von den übrigen organischen und anorganischen Zellprotoplasmabestandteilen zu trennen und jede einzelne Lipoidsubstanz für sich zu isolieren. Letzteres ist bereits für eine Reihe von Organen, wie Herz, Gehirn, Niere, Pankreas, durch die Arbeiten von Erlandsen[1]), Sigmund Fränkel[2]) und seiner zahlreichen Mitarbeiter erfolgreich durchgeführt und hat gezeigt, daß der Lipoid- resp. Phosphatidgehalt schon derselben Organe ein ganz verschiedener ist, sowohl in der Qualität wie in der Quantität. Wir können daraus schon ersehen, daß eben jedes Organ seine eigenen für die Lebensbedingungen und physiologischen Funktionen seiner Zellen entsprechend zusammengesetzte Lipoidsubstanzen enthält, die zu isolieren und kennen zu lernen das eifrige Bestreben der modernen physiologischen Chemie ist, wollen wir die Rolle kennen lernen, die diese Substanzen in ihrer normalen physiologischen Zusammensetzung, desgleichen dann unter pathologischen Verhältnissen spielen; denn nur auf diesem Wege kann dann auch später die Therapie Nutzen daraus ziehen.

Ich möchte jetzt noch kurz einen Überblick, eine chemische Sichtung, über die Lipoidsubstanzen geben, da es sich als unbedingt notwendig erweist, unter diesen vielen kompliziert zusammengesetzten Substanzen einigermaßen Ordnung zu schaffen, um so eine chemische Differenzierung unter gleichen Gesichts-

[1]) Untersuchungen über die lecithinartigen Substanzen des Myocardiums. Zeitschr. f. phys. Chem. 51, Heft 1 u. 2.

[2]) Über Lipoide. Diese Zeitschr. 9, 16, 17, 18, 19 u. 21.

punkten zu ermöglichen. Die nach den bisherigen Erfahrungen und Untersuchungen wohl von den meisten physiologischen Chemikern anerkannte Einteilung der Lipoidsubstanzen ist folgende:

I. P- und N-haltige Lipoide, die sog. Phosphatide, die nach dem Verhältnis des Stickstoffs zum Phosphor weiter differenziert werden in:

a) Monamidomonophosphatide N:P wie 1:1
b) Monamidodiphosphatide „ „ 1:2
c) Diamidomonophosphatide „ „ 2:1
d) Diamidodiphosphatide „ „ 2:2
e) Triamidomonophosphatide „ „ 3:1
f) Triamidodiphosphatide „ „ 3:2

usw.

Bei diesen Phosphatiden können wir nach dem Vorschlag Fränkels weiter unterscheiden zwischen solchen gesättigter Natur und solchen mit ungesättigtem Charakter der fetten Seitenketten.

II. P-freie, N-haltige Lipoide, die sog. Cerebroside (Glykoside).

III. P- und N-freie Lipoide, die sog. Cholesterine (Terpene).

IV. N-freie ungenau charakterisierte Substanzen und organoplastische Substanzen, die sog. Chromophane oder Lipochrome, Antigene.

Was nun die Darstellung resp. Isolierung dieser einzelnen Lipoidsubstanzen anbelangt, so fehlt es bis heute noch an einheitlichen Untersuchungsmethoden, und dies hat seinen Grund darin, daß die Lipoide der einzelnen Organe ganz verschieden zusammengesetzt sind und die einzelnen Lipoidsubstanzen sich zu den verschiedenen Lösungsmitteln ganz verschieden verhalten, daß ferner die verschiedenartigsten Mischungen in den diversen Organen vorhanden sind, die ihrerseits die Lösungsbedingungen außerdem noch stark modifizieren. Vergleichen wir nun bei den bis jetzt isolierten Lipoidsubstanzen vom Herzen, Gehirn, Niere, Pankreas die einzelnen Methoden, so sehen wir große Verschiedenheiten, so daß es den Anschein gewinnt, als ob für jedes Organ eine eigene spezielle Methode gefunden und ausgearbeitet werden muß.

Da die Bearbeitung der Lipoidsubstanzen einzelner Organe, wie Gehirn, Niere, Pankreas, bereits von anderer Seite in Angriff genommen ist, so habe ich auf Veranlassung meines Chefs, des Herrn Prof. Nevinny, die der Milzlipoide übernommen und werde in Kürze die vorläufigen Resultate jetzt bekannt geben.

Bevor ich die Untersuchung der Lipoidsubstanzen der Menschenmilz vornahm, machte ich zunächst Orientierungsstudien an Rindermilz und prüfte die verschiedenen bei den anderen Organen verwandten Methoden. Hierbei konnte ich die Wahrnehmung machen, daß beispielsweise die von Fränkel beim Gehirn so gerühmte Acetonextraktionsmethode bei der Milz keine Verwendung finden kann, desgleichen nicht die Methoden bei den anderen Organen, ebenso erwies sich die Methode von Erlandsen bei Ochsenherzen für Milz als unbrauchbar. Es gelang mir schließlich, nach zahlreichen Versuchen eine Fraktionsmethode auszuarbeiten, über die ich demnächst berichten werde. Ich kann nicht umhin, schon jetzt darauf aufmerksam zu machen, bei Arbeiten mit Lipoidsubstanzen jede höhere Temperatur als die des Körpers auszuschließen, desgleichen Licht und Luft sorgfältigst fern zu halten. Unter gleichzeitiger Anwendung dieser Kautelen konnte ich mit meiner Fraktionsmethode aus der Rindermilz drei verschiedene Phosphatide isolieren und rein darstellen. Allen drei war das eine gemeinsam, daß sie eisenhaltig waren, d. h. das Eisen in fester organischer Bindung führten. Da durch die Reindarstellung größere Verluste eintraten, so war die Ausbeute zu weiteren Untersuchungen zu gering. Es konnte eben nur der qualitative Nachweis erbracht werden, daß es sich um eisenhaltige Phosphatide handelt, von denen das eine gesättigter Natur war, während die beiden anderen den ungesättigten Charakter der fetten Seitenketten zeigten.

Nach diesen Vorstudien ging ich an die Bearbeitung von Menschenmilz. Die stets in ganz frischem Zustand erhaltene normale Menschenmilz gelangte sofort nach zweckentsprechender Präparierung in Bearbeitung unter den bei der Rindermilz gemachten Erfahrungen, wie sorgfältiger Vermeidung jeder höheren als der der Körpertemperatur sowie Licht- und Luftabschluß. Aus dem dann mit absolutem wasserfreiem Äther erhaltenen Milzauszug konnte ich nach meiner Fraktionsmethode folgende Lipoidsubstanzen isolieren: Jecorin, Lecithin, Cholesterin und drei Phosphatide, von welch letzteren drei nur eines durch seine Mengenverhältnisse dominierte.

Sämtliche Lipoidsubstanzen waren mit Ausnahme des Jecorins eisenhaltig, d. h. sie enthielten dies Eisen in fester organischer Bindung.

Das in größerer Menge isolierte Phosphatid ist eine rotbraune, halbfeste Substanz von eigentümlichem Geruche, leicht löslich in Äther, Alkohol, Aceton, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol usw. Mit Wasser bildet es eine trübe emulsionsartige Halblösung. Die alkoholische Lösung gibt mit alkoholischer Chlorcadmium-, desgleichen mit Platinchloridlösung Fällung.

Beim Erwärmen zersetzt es sich schnell, wird vorübergehend dünnflüssig, um dann beim Erkalten eine schwarze, harzige Masse zu geben. Wegen dieser Eigenschaften mußte von einer Schmelzpunktbestimmung Abstand genommen werden.

Die Elementaranalyse ergab folgende Werte:

C: 55,63%, H: 11,46%, N: 1,23%, P: 1,37%, Fe: 0,41%, O: 29,91%.

Das Atomverhältnis von Stickstoff und Phosphor ist 2:1, weshalb wir dies Phosphatid als ein Diamidomonophosphatid, und, da es Eisen organisch gebunden hält, als ein Diamidoferromonophosphatid auffassen müssen. Ich habe diesem neuen Körper den Namen „Ferroid" gegeben, um dem Eisengehalte und lipoidartigen Charakter gleichzeitig Rechnung zu tragen. Seiner Natur nach gehört das Ferroid zu den gesättigten Verbindungen, was durch die v. Bayersche Permanganatreaktion festgestellt wurde.

Über die Konstitution und Spaltungsprodukte werde ich demnächst berichten.

Die beiden anderen isolierten Phosphatide gehören dem Typus der ungesättigten Verbindungen an; das eine stellt ein hellbraunes hygroskopisches Pulver, das andere eine dunkelbräunliche festere Masse dar. Leider war die Ausbeute zu gering und konnte nur zur qualitativen Feststellung dienen. Ich muß die weiteren Untersuchungen auf später verschieben.

Aus diesen Resultaten geht deutlich hervor, daß die Lipoidsubstanzen sowohl der Rindermilz wie ganz besonders der Menschenmilz mit der einen Ausnahme des Jecorins sämtlich eisenhaltig sind, und scheint der Eisengehalt für das Organ charakteristisch zu sein.

Es erinnern diese Befunde an ähnliche des Knochenmarkes von Glikin[1]). Auch dieser Forscher konnte bereits die Beob-

[1]) Über den Eisengehalt der Fette, Lipoide und Wachsarten. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, Nr. 5.

achtung machen, daß die Lipoide des Knochenmarkes, insbesondere Lecithin und Cholesterin, Eisen in organischer Bindung enthalten. Interessant ist dies insofern, als das Knochenmark wie auch die Milz als Blutbildner eine wichtige Rolle im Organismus spielen; die Milz ferner noch, wie die Funktionsuntersuchungen derselben durch Großenbacher[1]) erwiesen haben, als das Organ des Eisenstoffwechsels angesehen werden muß.

Ich schließe diese meine vorläufige Mitteilung mit dem Bemerken, daß ich gegenwärtig mit der Verarbeitung größerer Mengen Milz beschäftigt bin und behalte mir gleichzeitig vor, später dann in einer größeren Arbeit im Zusammenhang meine Befunde ausführlich mitzuteilen.

---

[1]) Untersuchungen über die Funktionen der Milz. Diese Zeitschr. 17, Heft 1, 2, 3.

Über die Wirkung der Phosphate auf die Ausscheidung der Kohlensäure durch Pflanzen.

Von

Leonid Iwanoff.

(Aus dem botanischen Kabinett des K. Forstinstituts in St. Petersburg.)

(Eingegangen am 16. März 1910.)

In meiner vorhergehenden Abhandlung[1]) kam ich zu dem Schluß, daß die längst bekannte stimulierende Wirkung der Phosphate auf die alkoholische Zymasegärung durch die unmittelbare Teilnahme der Phosphorsäure an dem eigentlichen Mechanismus der Gärung erklärbar sei. Letzterer besteht wahrscheinlich wenigstens aus 3 Phasen: 1. einer Depolymerisation der Hexose, 2. einer Verbindung der daraus entstandenen Produkte mit der Phosphorsäure unter Einwirkung eines leicht löslichen Enzyms — der Synthease — und 3. eines Zerfalls der gebildeten phosphororganischen Verbindung unter Einwirkung eines schwer löslichen Enzyms — der Alkoholase — unter Bildung von Alkohol und CO_2. Lebedew[2]), Harden und Joung[3]) kommen in ihren vor kurzem erschienenen Arbeiten ebenfalls zur Annahme einer unmittelbaren Beteiligung der Phosphorsäure an der Gärung, wenn auch die Annahmen von Harden und Joung über den Modus dieser Beteiligung von meinem eben entwickelten Schema abweichen. Ihre Erwiderungen[4]) werde ich bald in einer besonderen Publikation beantworten; vorderhand genügt uns die Feststellung der Tatsache, daß für

[1]) S. Centralbl. f. Bakt. 24, 1, 1909.

[2]) Diese Zeitschr. 20, 114, 1909.

[3]) Proc. Roy. Soc. 80, 299, 1908; 81, 528, 1909.

[4]) Centralbl. f. Bakt. 26, 178, 1910.

die alkoholische Gärung der Hefe die Gegenwart der Phosphorsäure eine ebenso notwendige Bedingung wie diejenige eines Kohlenhydrats und der Zymase ist. Diese Tatsache läßt vermuten, daß auch in anderen Objekten, in denen alkoholische Gärung beobachtet worden ist, eine Beschleunigung derselben durch Phosphate stattfinden muß. Als günstigstes Objekt für dergleichen Versuche müssen Samen angesehen werden; erstens weil sie, wie zu wiederholten Malen festgestellt wurde, eine große Neigung zur CO_2-Produktion unter Alkoholbildung besitzen, und zweitens deshalb, weil die Phosphorsäure in ihnen fast vollständig an organische Verbindungen gebunden und deshalb wahrscheinlich im Minimum im Verhältnis zu den anderen Gärungsfaktoren (Kohlenhydrate, Zymase) enthalten ist.

Die Sache kompliziert sich aber dadurch, daß die Methoden der Enzymgewinnung aus Samen bis jetzt noch sehr unvollkommen sind, und an lebendigen Zellen, wie meine früheren Versuche zeigten, eine Stimulation durch Phosphate nicht eintritt. Doch wurde ein derartiges Verhältnis der lebenden Zellen zu Phosphaten bis jetzt nur in wenigen Versuchen mit Preßhefe beobachtet, und deshalb war es notwendig, die Bedingungen, unter denen eine Stimulation durch Phosphate in lebenden Hefezellen eintritt, näher zu präzisieren. Zu diesem Zweck wurden zunächst einige Versuche mit lebender Hefe ausgeführt. Dabei stellte es sich heraus, daß das Verhältnis der lebenden Hefezellen zur Phosphorsäure in hohem Maße von der Rasse und wahrscheinlich auch von ihrem physiologischen Zustande abhängt.

Als ich an Stelle der Preßhefe Bierhefe, die von der Petersburger Bierbrauerei „Novaja Bavaria" bezogen war, benutzte, konnte ich an derselben eine Stimulation durch Phosphate sowohl an lebenden als auch an mit Toluol abgetöteten Zellen feststellen. Später erhielt ich auch mit einigen der mir zur Verfügung stehenden Preßhefen positive Resultate.

Die Resultate dieser Versuche, die mit meinem kürzlich beschriebenen Manometerapparate ausgeführt wurden,[1]) sind in der Tabelle I zusammengestellt.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. 24, 429, 1909.

Tabelle I.[1])

Die Wirkung des Phosphats auf die Gärung lebender und durch Toluol abgetöteter Hefe.

Nr.	Im Manometer	Manometerstand in mm Quecksilber nach Stunden					
1	Je 15 ccm gewasch., in Wasser aufgeschwemmte Bierhefe, mit 0,3948 Trockenrückstand + 5 ccm 20%ige Glucose		2h	3h	4h	9h	14h	24h
		Ohne Toluol						
		mit 2 ccm Na_2HPO_4 10%[2])	16	96	168			
		ohne „ „	14	73	125			
		Mit 0,5 ccm Toluol						
		mit 2 ccm Na_2HPO_4 10%	9	29	48	55	118	245
		ohne „ „	13	33	53	60	109	205
2	Je 10 ccm gewasch. Bierhefe mit 0,1412 Trockenrückstand + 10 ccm 10%ige Saccharose		1h	3h	6h	9h	22h	
		Ohne Toluol						
		mit 2 ccm Na_2HPO_4 10%	2	41	106	157	380	
		ohne „ „	12	51	109	152	337	
		Mit 0,2 ccm Toluol						
		mit 2 ccm Na_2HPO_4 10%	10	40	77	106	200	
		ohne „ „	20	50	84	102	179	
3a	Je 2 g frische Preßhefe + 10 ccm 10%ige Saccharose		1/2h	2h	4h	6h	20h	
		Ohne Toluol						
		mit 0,1 g Na_2HPO_4 . . .	41	152	252			
		ohne „ . . .	34	130	209			
		Mit 0,2 ccm Toluol						
		mit 0,1 g Na_2HPO_4 . . .	11	30	—	56	144	
		ohne „ . . .	9	23	—	39	109	
3b	Je 2 g frische Preßhefe + 1 g Saccharose		1h 20′	2h 30′	3h 25′	5h 25′	7h 30′	9h 50′
		Ohne Toluol						
		10 ccm Wasser	110	196	259	430	490	515
		10 „ Na_2HPO_4 1% .	117	211	273	409	442	452
		Mit 0,4 ccm Toluol						
		10 ccm Wasser	4	7	11	18	24	30
		10 „ Na_2HPO_4 1% .	6	11	16	27	38	52

[1]) In jeder Zahl dieser Tabelle sind der Anschaulichkeit halber die Manometerhöhen für alle dem betreffenden Zeitpunkt vorangehenden Stunden addiert. Während des Versuchs wurde das Manometer fast nach jeder Ablesung geöffnet und das Quecksilber auf O gebracht, um große Drucke zu vermeiden, die nur in seltenen Fällen 100 mm erreichten. Ein Millimeter Quecksilber = ungefähr 0,5 ccm CO_2. Dieselbe Bemerkung gilt auch für alle anderen Tabellen, in denen Manometerversuche angeführt sind, außer Tabelle VII.

[2]) Unter Na_2HPO_4 ist überall das Salz von der Zusammensetzung $Na_2HPO_4 + 12\,H_2O$ gemeint.

Aus den in Tabelle I angeführten Zahlen ist zu ersehen, daß die Stimulation an lebender Hefe bald eintritt, bald nicht, im Zusammenhang mit dem physiologischen Zustand der Zellen, der einerseits von der Rasse, andererseits von der vorhergehenden Ernährung usw. abhängt; dagegen kommt in Gegenwart von Toluol die stimulierende Wirkung des Phosphats früher oder später immer zum Vorschein. Diese Verhältnisse können am ehesten, wie ich beiläufig in meiner vorhergehenden Arbeit erwähnt habe, durch das stark variierende Durchlässigkeitsvermögen des Plasmas erklärt werden. Dort, wo die Wirkung des Phosphats nicht zum Vorschein kommt, läßt die Zelle dieses Salz wahrscheinlich sehr langsam durch; unter der Einwirkung des Toluols verschwindet aber die Undurchlässigkeit des Plasmas und das Phosphat kommt mit dem Zellinhalt in Berührung. Dann tritt auch eine Stimulation ein, wenn auch manchmal, wie das aus der Tabelle zu sehen ist, erst nach einigen Stunden; zur Feststellung dieses Einflusses sind also manchmal ziemlich langwierige Versuche notwendig.

Die eben beschriebene Wirkung des Toluols widerspricht auf den ersten Blick den von Buchner in seiner „Zymasegärung" über die Wirkung des Toluols auf lebende Hefe angeführten Versuchen. Er fand nämlich (S. 180), daß eine Zugabe von 0,2 ccm Toluol zu 20 ccm Flüssigkeit mit lebender Hefe „sofort ihre Gärtätigkeit einstellt", wogegen der Preßsaft aus derselben Hefe unter denselben Bedingungen eine starke Gärtätigkeit entfaltete. Doch ist die Gärung der lebenden Hefe und des Hefepreßsaftes in diesen Versuchen nicht direkt vergleichbar, da die Bedingungen in beiden Fällen in der Tat verschieden waren. Denn 20 ccm Preßsaft, die zum Versuche benutzt wurden, waren aus ca. 40 g abgepreßter Hefe erhalten (S. 64) und enthielten ca. 3 g Trockensubstanz (S. 75); die Menge der auf dieselben 20 ccm Flüssigkeit genommenen lebendigen, bei 50 Atm. abgepreßten Hefe betrug nur 1 g mit wahrscheinlich weniger als 0,5 g Trockensubstanz. Bei diesen Bedingungen zeigen sogar gute Präparate von Zymin beinahe gar keine Gärtätigkeit.

Zweifellos ist aber außer dieser Ursache auch der physiologische Zustand, der bei verschiedenen Rassen verschieden ist, von großer Bedeutung. So konnte ich an der von mir benutzten Bierhefe eine deutliche Gärtätigkeit mit Toluol auch

bei einem Gehalt von 0,14 g trockener Hefe in 20 ccm Flüssigkeit beobachten.

Es ist allerdings die Annahme möglich, daß in Toluol bei der Anwendung großer Hefemengen das Absterben allmählich vor sich geht und die Gärung nur von lebendigen, vom Toluol noch unbeeinflußten Zellen ausgeübt wird. Doch spricht gegen diese Annahme die Tatsache, daß nach Buchner Toluol zu den Antisepticis zweiter Klasse gehört, bei denen „die Giftwirkung nicht vom Mengenverhältnis zwischen Protoplasma und Gift, sondern nur von der Giftkonzentration abhängig ist" (Zymasegärung S. 170). Außerdem zeigt Versuch 3b, in dem unter dem Einfluß von Toluol die Wirkung des Phosphats auf die Gärung eine vollständige Umkehrung erfährt (statt einer Abschwächung tritt Stimulierung ein), daß die Gärtätigkeit hier von Zellen hervorgerufen wird, die schon durch Toluol beeinflußt waren.

Wir können also die Zymase in der Hefe auf ebenso einfache Weise wie z. B. das proteolytische Enzym nachweisen, d. h. durch Zusatz eines Antisepticums wie Toluol. Um die Gärung in optimalen Bedingungen zu beobachten, ist es nur noch notwendig, ein basisches[1]) Phosphat zuzusetzen.

Nachdem wir die Bedingungen, unter denen eine Stimulation der Gärung lebender oder abgetöteter Hefezellen durch Phosphate stattfindet, näher bestimmt haben, wollen wir jetzt zu den Versuchen mit höheren Pflanzen übergehen.

Versuche mit Weizenkeimen.

Weizenkeime, die beim Abklopfen des Endosperms auf Mahlmühlen gewonnen werden,[2]) sind nach den Untersuchungen von Palladin[3]) ein an anaeroben Enzymen sehr reiches Objekt, und deshalb habe ich sie ganz zuerst für die Untersuchung der Beziehung höherer Pflanzen zum Phosphat ge-

---

[1]) Saure Phosphate des K und Na sind weniger dazu geeignet, weil sie die Gärtätigkeit wohl stimulieren, beim weiteren Verlauf der Gärung aber durch ihre saure Reaktion die Zymase schädlich beeinflussen.

[2]) Von Maggi, Zürich, Stadtmühle, bezogen.

[3]) Palladin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 24, 106, 1906.

nommen. Es hat sich erwiesen, daß die Toluolmethode zum Studium der enzymatischen Kohlensäureausscheidung an diesem Objekt vollkommen brauchbar ist.

Ganz ebenso, wie wir das vorhin bei der Hefe sahen, hielt eine starke CO_2-Ausscheidung lange Zeit nach dem Hinzufügen von Toluol im Überschuß zu den Objekten an.[1]) Zum Vergleich wurden außerdem mit Aceton bearbeitete, zerkleinerte und auch lebende, ganz unbearbeitete Keime genommen. Was die Methode der CO_2-Bestimmung betrifft, so waltet die CO_2-Ausscheidung bei Bedingungen meiner Versuche sowohl bei lebenden als auch bei toten Objekten so stark über der Sauerstoffaufnahme vor (der Respirationsquotient erreicht 2, 3 und mehr), daß es möglich erschien, die Gasausscheidung nach der Drucksteigerung im Manometerapparat zu messen.

Durch diese Methode wurde natürlich nicht die absolute Kohlensäuremenge, sondern nur ihr Überschuß im Vergleich zum aufgenommenen Sauerstoff bestimmt.[2]) Es wurde also diejenige Kohlensäure bestimmt, die höchstwahrscheinlich das Produkt nicht von Oxydations-, sondern von anaeroben Prozessen ist. Dank dieser Methode war es möglich, die Veränderungen der anaeroben CO_2-Ausscheidung in Gegenwart des Sauerstoffs sehr einfach zu verfolgen. Außer Manometerversuchen wurden auch solche mit gewichtsanalytischer Bestimmung der CO_2 ausgeführt.

Zu diesem Zweck wurde durch einen Kolben mit flachem Boden ein kohlensäurefreier Luft- oder Wasserstoffstrom gesogen, der nachher Schwefelsäure, einen Kaliapparat und wieder Schwefelsäure passierte. Die beiden letzteren Gefäße wurden von Zeit zu Zeit gewogen.

---

[1]) Eine derartige CO_2-Ausscheidung in keimenden Pflanzen beobachteten wahrscheinlich auch Soave (Le Stazione sperimentali agr. italiane 32, fasc. 6, 1899) und Butkewitsch (diese Zeitschr. 16, 411, 1909) unter der Einwirkung von Äther-, Chloroform- und Toluoldämpfen und Thymol, obgleich sie die Wirkung dieser Stoffe als Anästhesie betrachten.

[2]) Davon, daß die Sauerstoffabsorption wenigstens der mit Toluol abgetöteten Keime sich unter der Einwirkung der Phosphate nicht merklich verändert, habe ich mich durch besondere Kontrollversuche überzeugt. So z. B. absorbierten 10 g Keime mit Toluol und 20 ccm Wasser ev. Na_2HPO_4 (1%) in 57 St. dieselbe Menge — 23,7 ccm Sauerstoff.

Tabelle II.

Die Wirkung der Phosphate auf die CO_2-Ausscheidung der Weizenkeime.

Manometerversuche.

Nr.	Im Manometer	Manometerstand in mm Quecksilber nach Stunden							
4	5 g Acetonkeime[1]) + 2 g Glucose + 0,2 Toluol	3h	5h	6h	8h	9h	19h	28h	
	15 ccm Wasser	10	13	18	28	35	46	63	
	15 „ NaH_2PO_4 1% .	11	15	20	28	33	36	42	
	15 „ Na_2HPO_4 „ .	10	22	29	45	55	74	84	
5	5 g zerkleinerte Keime + 0,2 Toluol + 2 g Glucose	2h	5h	6h	9h	11h	21h	24h	
	15 ccm Wasser	7	16	20	27	34	43	52	
	15 „ NaH_2PO_4 1% .	8	15	17	24	30	34	43	
	15 „ Na_2HPO_4 „ .	6	24	31	45	60	82	96	
6	10 g lebende Keime	3h	8h	23h					
	20 ccm Wasser	11	43	143					
	20 „ Na_2HPO_4 1% .	16	61	188					
7	Je 10 g lebende Keime	2h	4h	8h	10h	20h			
	20 ccm Wasser	16	43	97	124	214			
	20 „ Na_2HPO_4 1% .	21	59	131	166	276			
	20 „ „ 3 „	13	44	118	156	281			
	20 „ NaH_2PO_4 0,4 %	21	53	118	148	232			
	20 „ KH_2PO_4 0,4 „	18	47	108	137	228			
	20 „ K_2HPO_4 0,5 „	21	61	141	177	296			
8	Je 10 g lebende Keime	$1^1/_2{}^h$	$2^1/_2{}^h$	$4^1/_2{}^h$	$5^1/_2{}^h$	$7^1/_2{}^h$	$9^1/_2{}^h$	$19^1/_2{}^h$	$23^1/_2{}^h$
	20 ccm Wasser	17	33	56	76	100	125	234	278
	20 „ Na_2HPO_4 1% .	20	40	74	98	135	167	309	361
	20 „ „ 3 „ .	13	33	66	90	126	163	317	372
	20 „ „ 4 „ .	9	23	52	73	106	138	278	330
	20 „ „ 5 „ .	8	17	40	59	90	118	252	302

Alle in der Tabelle III angeführten Versuche mit lebenden, zerkleinerten, mit Aceton und Toluol bearbeiteten Keimen zeigen eine bedeutende Erhöhung der CO_2-Produktion unter dem Einfluß von basischem Phosphat, die durchschnittlich

[1]) Lufttrockene Keime wurden 1 St. mit Aceton bearbeitet, abfiltriert, mit Äther gewaschen und bei 40° getrocknet und dann zum Versuch (intakt oder zerkleinert) benutzt.

20 bis 30 % und in den ersten Stunden manchmal beinahe 100 % erreicht.[1]) Die Konzentration, bei der diese Erscheinung stattfindet, kann sehr hoch sein (bis 5 %), was für die Wir-

Tabelle III.

Die Wirkung des Phosphats auf die CO_2-Ausscheidung der Weizenkeime.

Versuche nach gewichtsanalytischer Methode.

Nr.	Im Kolben	CO_2 in mg ausgeschieden nach Stunden			Summe	Differenz mg	Differenz %
		16h	11h	12h	39h		
9	5 g Keime + 2 g Glucose + 0,5 Toluol	15 ccm Wasser	57	110	61	228	62	27
		15 „ Na_2HPO_4 1 % .	109	102	79	290		
		9h			9h		
10	10 g Keime ohne Toluol im Wasserstoffstrom	20 ccm Wasser	111			111	19	17
		20 „ K_2HPO_4 1 % .	130			130		
		7h 30′	12h	10h	29h 30′		
11	10 g Keime + 0,5 ccm Toluol	20 ccm Wasser	52	41	11	105	15	14,3
		20 „ NaH_2PO_4 0,4 %	49	57	14	120		
	Acetonkeime[2])	23h	24h	15h 45′	62h 45′		
12	5 g zerkleinerte Keime + 2 g Glucose + 0,5 Toluol	15 ccm Wasser	167	77	20	264	73	28
		15 „ Na_2HPO_4 1 % .	219	90	38	337		
		8h	24h	19h	51h		
13	5 g ganze Keime + 5 g Glucose + 0,5 Toluol	15 ccm Wasser	12[3])	75	30	117	33	20
		15 „ Na_2HPO_4 1 % .	9	92	49	150		

[1]) Kostytschew ist in seiner Arbeit (diese Zeitschr. 15, 190) zu entgegengesetzten Resultaten gelangt, was dadurch zu erklären ist, daß bei den von ihm angewandten Konzentrationen (3 bis 3,5 %) die Stimulation bedeutend später bemerkbar wird, in den ersten Stunden aber sogar eine Abschwächung eintritt, die wahrscheinlich durch die Absorption der Kohlensäure durch alkalische Phosphate hervorgerufen wird.

[2]) Siehe Anmerkung zur Tabelle II.

[3]) Die niedrigen Zahlen dieses Versuchs sind wahrscheinlich durch die hohe Konzentration der Glucose (33 %) bedingt.

kung dieses Salzes im Gegensatz zu andern Salzen charakteristisch ist.[1])

Das saure Phosphat stimuliert allerdings noch bei 0,4% (beinahe äquimolekular mit 1% basischen Phosphats), doch bei 1% ist schon eine schädliche Wirkung auf die CO_2-Ausscheidung bemerkbar. Diese Erscheinung wurde auch bei alkoholischer Gärung (obschon bei höheren Konzentrationen des Phosphats) von mir beobachtet und steht mit der schädlichen Wirkung der sauren Reaktion auf die Gärungsenzyme im Zusammenhang. Endlich ist, wie das schon für Hefe beobachtet wurde, ein Unterschied zwischen Natrium- und Kaliumphosphat nicht vorhanden, natürlich wenn man dieselben in äquimolekularen Konzentrationen vergleicht.

Eine andere beachtenswerte Tatsache besteht darin, daß die Stimulation in einer Wasserstoffatmosphäre vor sich geht und am Manometer beobachtet werden kann; daraus folgt, daß die Phosphate den Respirationsquotient steigern, d. h. die mit Sauerstoffabsorption nicht verbundene Kohlensäureausscheidung fördern. Diese Tatsache in Verbindung mit dem Charakter der Phosphatwirkung zeigt uns deutlich, daß wir es hier mit der Zunahme der von der alkoholischen Gärung entstammenden CO_2 zu tun haben.[2])

---

[1]) Die Versuche von Krzemieniewski (Bull. de l'Acad d. Sc. Cracovie 1902), die Zaleski und Reinhardt (diese Zeitschr. 23, 1909) vor kurzem wiederholt haben, zeigen deutlich, daß in den ersten Keimungsstadien die Salze auch in geringen Konzentrationen die Atmung der Samen gar nicht stimulieren können.

[2]) Dieses Resultat erklärt vielleicht jene Steigerung der CO_2-Ausscheidung, die Kostytschew (diese Zeitschr. 15, 164; 23, 137) bei Weizenkeimen unter dem Einfluß durch Zymin vergorener Zuckerlösungen beobachtet hatte. Die vergorene Flüssigkeit wurde von ihm in Gegenwart bedeutender Dinatriumphosphatmengen erhalten, die nach der Gärung im Filtrat entweder als organische Phosphorsäure (die ebenfalls, wie weiter unten gezeigt wird, die CO_2-Ausscheidung der Keime bedeutend steigert) oder als freies Phosphat auftrat. Letzteres war dann der Fall, wenn die vergorene Flüssigkeit das Fehlingsche Reagens nicht mehr reduzierte. Da nach Palladin (Bull. de l'Acad. d. Sc. de St. Petersbourg 1909, 546) diese Steigerung sowohl im Wasserstoffstrome als auch bei gefrorenen Keimen, wo sämtliche CO_2 anaeroben Ursprunges ist, beobachtet wird, so ist es sehr wahrscheinlich, daß wir es hier nicht mit einer Oxydation von Zwischenprodukten der Zymingärung, sondern mit einer Stimulation der CO_2-Ausscheidung durch die in der Flüssigkeit vorhandenen anorganischen oder organischen Phosphate zu tun haben.

Tabelle IV.

Die Wirkung organ. Phosphorsäure auf die CO_2-Ausscheidung durch Weizenkeime.

Gewichtsanalytische Versuche.

Nr.	Im Kolben mit Toluol im Überschuß	CO_2 in Milligramm nach Stunden					Summe	Differenz mg	Differenz %
		7h 30′	17h				24h 30′		
14	5 g Keime { 15 ccm Wasser	35	43	—	—	—	78	64	82
	15 „ org. Phosph.-S.	37	105	—	—	—	142		
		8h	15h 30′	8h	15h 30′	26h	73h		
15	5 g Keime { 15 ccm Wasser	16	54	10	17	12	109	133	122
	15 „ org. Phosph.-S.	20	99	22	53	48	242		
	Zerkleinerte Keime	8h 15′	15h	8h	15h 30′		46h 45′		
16	5 g { 25 ccm Wasser	7	16	4	6	—	33	66	200
	25 „ org. Phosph.-S.	13	63	9	14	—	99		
		8h	15h				23h		
17	5 g { 13 ccm Wasser	9	12	—	—	—	21	36	171
	13 „ org. Phosph.-S.	18	39	—	—	—	57		
		7h 30′	16h				23h 30′		
18	10 g { 25 ccm Wasser	22	74	—	—	—	96	97	101
	25 „ org. Phosph.-S.	30	163	—	—	—	193		
		8h	15h 30′	8h	15h 30′		47h		
19	5 g { 15 ccm Wasser	14	31	4	3	—	52	95	185
	15 „ org. Phosph.-S.	35	71	24	17	—	147		
	Acetonkeime, ganz	8h	15h				23h		
20	5 g { 15 ccm Wasser	33	48	—	—	—	81	76	94
	15 „ org. Phosph.-S.	47	110	—	—	—	157		
	Im Manometer	Manometerstand in Millimeter Quecksilber nach Stunden							Diff.
		1h 30′	2h 30′	3h 30′	4h 30′	14h	15h	16h	
21	5 g gemahl. Keime + 0,2 Toluol { 25 ccm Wasser .	3	3	0	2	13	17	21	26
	25 „ org. Ph.-S.	0	4	10	15	38	43	47	
		2h	4h	5h	7h	9h	20h	23h	
22	5 g gemahl. Acetonkeime + 0,2 Toluol { 15 ccm Wasser .	4	10	16	21	31	57	66	39
	15 „ org. Ph.-S.	7	21	34	45	61	98	105	

Daraus folgt aber nach unserem Schema der alkoholischen Gärung (s. oben), daß die bei der Zymingärung gebildete organische Phosphorsäure auch die CO_2-Ausscheidung der Keime fördern muß.

Versuche mit organischer Phosphorsäure, die aus dem Filtrat der Zymingärung dargestellt wurde, bestätigen diese Annahme.[1])

Aus den angeführten Versuchen erfolgt zweifellos, daß die organische Phosphorsäure die CO_2-Ausscheidung ungemein fördert; die Manometerversuche zeigen außerdem, daß diese Steigerung sich auf die anaerobe Kohlensäure bezieht. Wir sehen also an Weizenkeimen, daß hier die anaerob ausgeschiedene CO_2 ihre Entstehung demselben Mechanismus wie bei der Hefegärung verdankt.

Versuche mit Erbsen- und anderen Pflanzensamen.

Von Samen habe ich bis jetzt Erbsen genauer untersucht, an denen schon viele Forscher alkoholische Gärung beobachtet hatten.[2]) Zur Versuchsmethodik mit diesen Samen muß folgendes bemerkt werden. Da die einzelnen Erbsensamen ziemlich große Gewebekomplexe darstellen, in die Phosphate und Toluol wahrscheinlich langsam eindringen,[3]) so versuchte ich die Samen in gemahlenem Zustande zum Experiment zu benutzen.

Wider Erwarten zeigten die gemahlenen Samen bei Toluolzusatz nicht nur eine energische CO_2-Ausscheidung, sondern dieselbe war hier viel intensiver (s. Tabelle V, Nr. 24) als bei ganzen, intakten Samen.[4]) Es soll aber sogleich bemerkt werden,

---

[1]) In allen Versuchen wurde saures oder neutrales Natronsalz der organischen Säure genommen, die durch Neutralisation der freien Säure gewonnen wurden.

[2]) S. z. B. Godlewski und Polzeniusz, Bull. de l'Acad. d. Sc. Cracovie 1901. — Polowzow, Mémoires de l'Acad. d. Sc. de St. Petersbourg 8, 12, 1901. — Nabokich, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 21, 1903.

[3]) Bei einigen Samen (Hordeum) fand z. B. Brown die Hüllen für Salz ganz impermeabel. Proc. Roy. Soc. 81, 82, 1909.

[4]) Diese Tatsache steht wahrscheinlich mit der von Frl. Junitzkaja (s. Palladin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 435) beobachteten Zunahme der CO_2-Ausscheidung nach dem Gefrieren von Erbsensamen im Zusammenhange. Sowohl beim Gefrieren als auch beim Zerreiben heben wir wahrscheinlich die regulatorische Tätigkeit des Organismus auf, wodurch einige Prozesse, wie z. B. die CO_2-Ausscheidung oder die Proteolyse, eine unverhältnismäßige Steigerung anderen Vorgängen gegenüber erfahren.

daß eine solche CO_2-Produktion nur bei einigen bestimmten Sorten beobachtet wird (Viktoria, Laxton, Marrow); andere Sorten dagegen (Wilhelm I. und Albert) zeigen bei diesen Bedingungen nur schwache CO_2-Ausscheidung. Hier begegnen wir also, wie früher bei der Hefe, durch Rasseneigentümlichkeiten bedingten Differenzen, die eine genaue Bezeichnung der zum physiologischen Versuch benutzten Pflanzen notwendig machen.

Diese Versuche mit Samenmehl zeigen uns deutlich, daß eine Zerstörung des anatomischen Baues nicht immer eine Hemmung der CO_2 ausscheidenden Enzyme nach sich zieht; die Erbsen beweisen uns gerade das Gegenteil.[1])

Dank dieser Eigentümlichkeit der Erbsensamen sind die meisten in Tabelle V und VI angeführten Versuche namentlich mit zerriebenen Samen ausgeführt.

Alle diese Versuche ergaben ganz übereinstimmend dieselben Resultate, wie früher diejenigen mit Weizenkeimen. Basisches Phosphat rief nämlich eine sehr bedeutende Steigerung der CO_2-Ausscheidung sowohl im Luft-, als auch im Wasserstoffstrome hervor. Dieselben Resultate wurden auch in Manometerversuchen erhalten. Die Zugabe von organischer Phosphorsäure hatte ebenfalls eine Stimulierung sowohl in Luft, als auch in Wasserstoff zur Folge. Die anaerob gebildete Kohlensäure entsteht hier also ebenfalls in den Vorgängen, wo die Phosphorsäure wahrscheinlich eine ebensolche direkte wichtige Rolle wie bei der Hefegärung spielt.

Außerdem bietet auch der Versuch (Nr. 28) mit lebenden ganzen Samen ein gewisses Interesse. Letztere befanden sich in ausgezeichneten Durchlüftungsbedingungen, da die gequollenen Samen auf einer großen Fläche in einer dünnen Flüssigkeitsschicht lagen und die Luft dabei fortwährend erneuert wurde. Trotzdem erfuhr die Menge der ausgeschiedenen CO_2 bei den in 1% Na_2HPO_4 liegenden Samen eine merkliche Steigerung. Da auch bei solchen Durchlüftungsbedingungen die mit Schalen versehenen Erbsensamen nach Polowzow[2]) und Kostytschew[3])

[1]) S. Palladin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 451.

[2]) Polowzow, Mémoires de l'Acad. d. Sc. de St. Petersbourg 8, 1901.

[3]) Kostytschew, diese Zeitschr. 15, 1908.

alkoholische Gärung offenbaren, so geht auch hier die Stimulierung wahrscheinlich auf Kosten der anaeroben CO_2 vor sich.

Tabelle V.

Die Wirkung des Phosphats auf die CO_2-Ausscheidung von Erbsensamen (Viktoria).

Versuche nach gewichtsanalytischer Methode.

Nr.	I. Samen mit Toluol		Nach Stunden			Summe	Differenz mg	Differenz %
			19h 30′	9h		28h 30′		
23	10 g Samen, zerrieben	20 ccm Wasser	57	44	—	101	47	40
		20 „ Na_2HPO_4 1%	100	48	—	148		
			23h 30′	18h		41h 30′		
24	10 g Samen, ganz	20 ccm Wasser	32	50	—	82	19	23
		20 „ Na_2HPO_4 1%	37	64	—	121		
	10 g Samen, zerrieben	20 „ Wasser	104	94	—	198	78	39
		20 „ Na_2HPO_4 1%	155	121	—	276		
			24h			24h		
25	10 g Samen zerrieben, Luft	20 ccm Wasser	95			95	63	66
		20 „ Na_2HPO_4 1%	158			158		
	Wasserstoff	20 „ Wasser	60			60	49	81
		20 „ Na_2HPO_4 1%	109			109		
			20h			20h		
26	10 g Samen zerrieben, Luft	20 ccm Wasser	53			53	57	108
		20 „ Na_2HPO_4 1%	110			110		
	Wasserstoff	20 „ Wasser	23			23	43	187
		20 „ Na_2HPO_4 1%	66			66		
			10h			10h		
27	10 g Samen zerrieben, Wasserstoff	20 ccm Wasser	28			28	20	71
		20 „ Na_2HPO_4 1%	48			48		
	II. Ganze lebende Samen ohne Toluol		12h | 9h	24h	14h | 9h	24h	92h	
28	10 g Samen[1] (Marrow)	in 10 ccm Wasser	48 | 30	67	40 | 29	93	307	76	25
		„ 10 „ Na_2HPO_4 1%	46 | 35	66	70 | 46	120	383		

[1]) 6 Stunden vorher bei 15° aufgequollen.

Tabelle V (Fortsetzung).

Manometerversuche.

Nr.	Im Manometer			Manometerstand in Millimeter Quecksilber nach Stunden				
				10^h				
29	10 g zerriebener Erbsensamen	ohne Toluol	20 ccm Wasser . . .	33	27			
			20 „ Na_2HPO_4 1%	60				
		mit 0,2 ccm Toluol	20 „ Wasser . . .	24	21			
			20 „ Na_2HPO_4 1%	45				
				6^h	20^h	27^h	45^h	
30	10 g zerriebener Samen + 0,2 ccm Toluol		20 ccm Wasser . . .	18	61	85	125	52
			10 „ Na_2HPO_4 1%	27	93	125	177	

Tabelle VI.

Die Wirkung der organ. Phosphorsäure auf die CO_2-Ausscheidung durch Erbsensamen.

Versuche nach gewichtsanalytischer Methode.

Nr.	Im Kolben je 10 g zerriebener Samen mit Toluol	CO_2 in Milligramm ausgeschieden nach Stunden			Summe	Differenz	
						mg	%
		5^h	18^h		23^h		
31	Luftstrom: 20 ccm Wasser	12	85	—	97	77	79
	Luftstrom: 20 „ org. Phosphorsäure	13	161	—	174		
		19^h	$9^h\,30'$	18^h	$46^h\,30'$		
32	Luftstrom: 20 ccm Wasser	61	32	74	167	87	52
	Luftstrom: 20 „ org. Phosphorsäure	87	50	117	254		
		42^h			42^h		
33	Wasserstoffstrom: 20 ccm Wasser	104	—	—	104	31	30
	Wasserstoffstrom: 20 „ org. Phosphorsäure	135	—	—	135		
		20^h			20^h		
34	Wasserstoffstrom: 20 ccm Wasser	27	—	—	27	38	140
	Wasserstoffstrom: 20 „ org. Phosphorsäure	65	—	—	65		

Endlich habe ich die Wirkung des Phosphats auf Samen von Helianthus annuus, Vicia sativa, Vicia Faba und Zea Mays untersucht; wie aus Tabelle VII zu ersehen ist, zeigten alle diese

Tabelle VII.

Die Wirkung der Phosphate auf Samen verschiedener Pflanzen.

Nr.		Manometerstand in Zentimeter Quecksilber												Summe	Diff.
	Helianthus annuus	Nach Stunden													
		5h	3h		13h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	24h	205h		
35	Je 10 g halbierter und geschälter Samen: 10 ccm Saccharose 10%	−6	−7	Je 0,5 ccm Toluol zugesetzt	3	1	25	36	33	30	12	12	12	164	123
	10 „ Lösung von Saccharose 10% + Na_2HPO_4 1%	−6,5	−8		6	4	24	69	75	54	23	17	15	287	
		Nach Tagen													
		2	1		1	2	1							8	
36	Dasselbe + 0,5 Toluol: 15 ccm Glucose 10%	8	29		13	6	5	5	—	—	—	—	—	—	66	62,5
	15 „ Lösung von 10% Glucose + 1% Na_2HPO_4	12	30,5		32	28	16	10	—	—	—	—	—	—	128,5	
	Vicia sativa	Nach Tagen													
		1	1		1	1	1	1	1					8	
37	Je 10 g grob gemahlener Samen mit Schalen + 0,2 Toluol: 15 ccm Wasser	8	15		32	19	12	11	9	0	—	—	—	—	106	132
	15 „ Na_2HPO_4 1%	5	23		45	40	35	30	30	30	—	—	—	—	236	
	Vicia Faba	Nach Tagen													
		1	1		1	1	1	1	1					8	
38	Je 10 g grob gemahlener Samen mit Schalen + 0,4 Toluol: 20 ccm Wasser	16	3		4	3	0	5	4	4	—	—	—	—	39	137
	20 „ Na_2HPO_4 1%	25	28		28	30	26	20	12	7	—	—	—	—	176	
	Zea Mays	Nach Tagen													
		1	1		1	1	1							5	
39	Je 10 g grob gemahlener Samen + 0,3 Toluol: 20 ccm Glucose 10%	5	11		4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20	17
	20 „ Lösung von 10% Glucose + 1% Na_2HPO_4	5	17		15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	37	
40	Dasselbe + 0,5 Toluol: 20 ccm Glucose 10%	−1	12		−2	−3	−8	—	—	—	—	—	—	—	−2	55
	20 „ Lösung von 10% Glucose + 1% Na_2HPO_4	7	16		14	9	7	—	—	—	—	—	—	—	53	

Objekte in zerriebenem oder halbiertem Zustande bei Toluol- und Phosphatzusatz dieselbe Beschleunigung der CO_2-Produktion.

Diese letzten Versuche, denen nur eine orientierende Bedeutung zukommt, erlauben uns zu hoffen, daß die von mir an Weizenkeimen und Erbsen studierte Beziehung zum Phosphat keine Ausnahme vorstellt.[1]) Allerdings sinkt hier unter dem Einfluß des Toluols die CO_2-Ausscheidung sehr stark, so daß man längere Zeitabschnitte beobachten muß und niedrigere absolute Zahlen erhält;[2]) doch tritt die Beschleunigung unter dem Einfluß des Phosphats auch hier sehr klar hervor.

Es scheint also, daß überall, wo eine anaerobe CO_2-Ausscheidung vorliegt, eine Stimulation dieser Ausscheidung durch Phosphate erfolgt. Wir müssen also auch hier, bei höheren Pflanzen wie bei Hefe, eine direkte unmittelbare Teilnahme der Phosphorsäure an der Ausscheidung dieser Kohlensäure annehmen.

---

[1]) Eine ähnliche Beschleunigung der CO_2-Ausscheidung unter dem Einfluß von Phosphaten beobachtete auch N. N. Iwanoff an abgetöteten etiolierten Stengelspitzen von Vicia Faba. (Tagebuch der XII. Vers. russ. Naturf. u. Ärzte 1910.) Auch über die günstige Wirkung der phosphorsauren Salze auf die CO_2-Ausscheidung zerriebener tierischer Gewebe liegen einige Beobachtungen vor (s. Batelli u. Stern, Handb. d. biochem. Arbeitsmethod. 3, 1. Hälfte, 467).

[2]) Man darf übrigens nicht vergessen, daß das Manometer nur einen Teil der CO_2 anzeigt, nämlich ihren Überschuß gegenüber dem absorbierten Sauerstoff.

Zur Frage des Eiweißabbaues im menschlichen Darme.

Von

Alice Stauber.

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium der k. k. Krankenanstalt „Rudolf-Stiftung", Wien).

(Eingegangen am 4. März 1910.)

Die Art des Eiweißabbaues im Darm ist durch die Untersuchungen des Darminhaltes in verschiedenen Perioden der Verdauung nicht in genügender Weise aufgeklärt. Es haftet naturgemäß diesen Untersuchungen der Mangel an, daß sie nur das unserer Forschung zugänglich machen können, was im Augenblick der Untersuchung vom Darminhalte noch vorhanden ist. Bezüglich des schon vom Organismus resorbierten Materials können wir höchstens die Quantität berechnen, betreffs der Qualität aber nichts aussagen, da wir nicht wissen, in welchem Stadium des Abbaues die Eiweißnahrung zur Resorption gelangt ist.

Die Verfolgung des Schicksals des resorbierten Materials im Organismus scheitert bekanntlich an der durch die Verteilung bedingten Verdünnung und an den analytischen Schwierigkeiten des Nachweises. Trotzdem erscheint es uns nicht nötig, den Weg der Verfolgung des resorbierten Materials aufzugeben.

Berücksichtigen wir, daß wir im allgemeinen unter tieferem Abbau Amidosäurenbildung verstehen, unter geringem Abbau Albumosenbildung und daß experimentelle[1]) Amidosäuren-Einverleibung in den Organismus viel rascher und leichter zu Harnstoffbildung führt als Albumosen-Einverleibung, so ist es auch

[1]) Schöndorf, Pflügers Archiv 74; S. Salaskin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 25; F. Kraus, Arch. f. d. ges. Physiol. 98; Töpfer, Protokoll d. Sitzung d. Ges. d. Ärzte. 7. März 1902. Wiener klin. Wochenschr.; E. Freund, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 1907.

denkbar, daß reichliche Amidosäurenbildung im Darm rascher zur Harnstoffausscheidung führen wird als Albumosen- und Peptonbildung im Darme.

Die Untersuchung des Harnes nach dem bisherigen Untersuchungsmodus deckte dies nicht auf, weil man in pathologischen Fällen meistens bei der Prüfung auf stickstoffhaltige Substanzen nur die Größe des Gesamtstickstoffes und des Harnstoffes im Laufe von 24 Stunden berücksichtigte. Diese beiden Größen werden in sehr geringem Grade davon beeinflußt, in welcher Form und nach welcher Zeit die Nahrungssubstanzen resorbiert worden sind, da im Verlauf von 24 Stunden — bei Stickstoff-Gleichgewicht — jedenfalls der größte Teil der eingeführten stickstoffhaltigen Substanzen zu Harnstoff umgesetzt wird.

Man konnte aber erwarten, bei stündlicher Untersuchung der Harnstoffausscheidung einen besseren Einblick in diese Verhältnisse zu gewinnen.

In der Literatur findet sich für diese Frage nicht viel Aufklärendes.

Diejenigen Autoren, die sich mit der stündlichen Harnstoff- bzw. Stickstoffausscheidung bei gesunden Individuen beschäftigten, haben ihre Aufmerksamkeit hauptsächlich auf zwei Punkte gerichtet. Erstens auf die genaue Feststellung der Form der Ausscheidungskurve und zweitens auf die Beeinflussung derselben durch Lebens- und Ernährungsvorgänge. Bezüglich der Form stimmen die meisten darin überein, daß es zwei bis drei Maxima gibt, eines in der 1. bis 2., eines in der 3. bis 4., eventuell auch in der 6. bis 7. Stunde nach der Nahrungszufuhr.

Doch unterscheiden sich die einzelnen Autoren durch Annahme einer verschiedenen Provenienz dieser Maxima.

So haben Rosenmann[1]), Tschlenoff[2]), Veraguth[3]), Cronheim[4]) das erste Maximum auf die zugeführte Fleischkost bezogen, und

---

[1]) R. Rosenmann, Über den Verlauf von N-Ausscheidung beim Menschen. Pflügers Archiv 65.

[2]) B. Tschlenoff, Der zeitliche Ablauf der N-Ausscheidung nach einer Mahlzeit. Correspondenzblatt d. Schweiz. Ärzte 26.

[3]) O. Veraguth, Der Einfluß einer Nahrung auf die N-Ausscheidung im Urin. Journ. of Physiol. 21 depart. pathol. chem. Univ. college London.

[4]) Cronheim, Beiträge zur Beurteilung nach dem Nährwert der Spaltungsprodukte des Eiweißes. Arch. f. d. ges. Physiol. 1905, 106.

zwar weist Tschlenoff besonders darauf hin, daß das erste Maximum (in der 2. bis 4. Stunde) der Resorption im Magen entspreche, das Absinken dem Übergang des Speisebreies in den Darm das neuerliche Ansteigen in der 6. bis 7. Stunde der Resorption im Darm.

Die Menge des zugeführten Eiweißes ist nicht gleichgültig für diese beiden Maxima; so findet Tschlenoff, daß bei stickstoffarmer Kost die Kurve nicht so regelmäßig ist wie bei stickstoffreicher; dafür sprechen auch die Versuche von Becher[1]), Feder[2]), Panum[3]) und Falk[4]), der sogar direkt anführt, daß nach Zufuhr von 500 g Fleisch das Maximum in der 7., nach 1000 g in der 12. nach 1500 g in der 14. Stunde auftritt.

Auch Gmelin[5]) nimmt einen Einfluß der Eiweißsättigung des Organismus an und meint, daß der Eiweißsattere rascher die Ausscheidung des umgebildeten Harnstoffes vollziehe als der Eiweißhungrige.

Erst Haas[6]) hat an Selbstversuchen gezeigt, daß die erste Steigerung unabhängig vom Stickstoff der Nahrung auf einer durch die mit der Nahrung eingeführten Flüssigkeit bewirkten Ausschwemmung der Harnstoffdepots aus dem Organismus beruht und durch vorherige Eliminierung der stickstoffhaltigen Depots aus dem Organismus vermieden werden kann.

Vielleicht lassen sich durch die Angaben von Haas die Versuche von Gmelin durch Harnstoffdepots erklären. Bezüglich sonstiger Einflüsse wurde von Gmelin und Haas festgestellt, daß Erwärmung, Abkühlung, Muskelanstrengung und Ruhe keinen Einfluß auf die Form der Kurve haben. Was die Beeinflussung der Harnstoffkurve durch pathologische Zustände anbelangt, haben wir nur eine Arbeit von Siciliano[7]) gefunden, der angibt, daß die Ausscheidungskurve durch Krankheiten verschieden beeinflußt werde, aber keine genauen Angaben folgen läßt.

Mit dem Studium der Harnstoffkurven nach Verabreichung einer Nahrung, deren Eiweiß außerhalb des Organismus weit abgebaut ist, beschäftigen sich Nolf und Honoré[8]), Graffenberger[9]), Tschlenoff, Cronheim, Reichenau[10]).

---

[1]) Becher, Studien über die Respiration. Zürich 1885.

[2]) Feder, Der zeitliche Ablauf der Zersetzungen im Tierkörper. Zeitschr. f. Biol. 17, 1881.

[3]) Panum, Nor. deiskt. mid. Arch. 6, Nr. 12, 1874.

[4]) C. R. Falk, Beitr. z. Physiol. u. Pharmakol. u. Toxolog. 1871.

[5]) Gmelin, Beeinflussung des zeitlichen Ablaufes der Stickstoffausscheidung nach einer Mahlzeit. Blätter f. klin. Ther. 8.

[6]) Ernst Haas, Über die Beziehungen der stündlichen Stickstoffausscheidung in ihrer Abhängigkeit von Ruhe, Arbeit und Diurese. Diese Zeitschr. 12, H. 3 u. 4.

[7]) S. Siciliano, Richerche intorno all' eliminatione dell urea nelle prime ore della digestione. Rif. med. 23, Nr. 41.

[8]) P. Nolf und Honoré, Einfluß der Bedingungen der Aufsaugung des Nahrungsstickstoffes im Darm auf die Stickstoffausscheidung im Harn. Arch. intern. de physiol. 2.

[9]) Graffenberger, Zeitschr. f. Biol. 28.

[10]) Reichenau, diese Zeitschr. 21, 1909.

Doch hat der größere Teil der Autoren mit Verdauungspräparaten gearbeitet, die nicht als indifferenter Ersatz normaler Nahrung betrachtet werden können.

Nolf und Honoré haben geprüft, ob weiter abgebaute Nahrung rascher zur Harnstoffausscheidung führe als weniger abgebaute, und haben zu diesem Zweck Wittepeptonlösung mit den Produkten der Pankreasautolyse verglichen, ohne einen nennenswerten Unterschied zu finden.

Zur Beurteilung dieser Angaben muß aber berücksichtigt werden, daß die verwendeten Produkte der Pankreasautolyse wesentlich andere Bedingungen gesetzt haben als das Wittepepton; sie riefen eine so starke Transsudation in das Darmlumen hervor, daß der flüssige Inhalt nach dem Versuch reichlicher war, als die eingeführte Menge betrug, während beim Wittepeptonversuch das Wasser größtenteils resorbiert wurde.

Bezüglich der Zufuhr von Albumosen finden Cronheim und Graffenberger ein verspätetes Auftreten des höchsten Ausscheidungsgipfels gegenüber normaler Nahrung. Insbesondere Graffenberger führt an, daß von Kemmerichpepton nur 40% von Fibrin, Leim, Asparagin aber 80% in den ersten 10 Stunden ausgeschieden werden. Dieses Verhalten scheint aber noch nicht geklärt, weil auch eine Angabe von Tschlenoff existiert, die ein Vorrücken des Maximums in die 1. bis 2. Stunde konstatiert, während Reichenau bei Superponierung von Albumosen zu normaler Nahrung keine Änderung in 3stündigen Intervallen gegenüber ausschließlich normaler Nahrung finden konnte.

Bei Durchsicht der angeführten Literaturangaben kann demnach als Gemeinsames aller Autoren konstatiert werden, daß nach Einführung von stickstoffhaltiger Nahrung zwei Maxima der Harnstoffausscheidung auftreten. Das erste in den ersten 3 Stunden, das zweite in den zweiten 3 Stunden. Das erste Maximum scheint nach den Versuchen von Haas lediglich durch Ausscheidung retinierter stickstoffhaltiger Substanzen bedingt zu sein und kann durch vorheriges Ausschwemmen des Organismus mit Flüssigkeit vermieden werden. Das zweite Maximum tritt auch bei dieser Versuchsanordnung in der 4. bis 5. Stunde auf und hängt mit der eingeführten Nahrung zusammen. Bezüglich der Beeinflussung des Maximums durch verschieden konstituierte Nahrung, wie Wittepepton, Somatose, Kemmerichpepton, Asparagin und Pankreasverdauungsprodukte, stehen einander zwei Angaben gegenüber: die eine, die besagt, daß die Spaltungsprodukte des Eiweißes eine Verschiebung des Maximums der Stickstoffausscheidung auf eine spätere Stunde bedinge, die andere, die das Gegenteil behauptet, daß nämlich das Maximum nach vorwärts geschoben wird und schon in

der 1. bis 2. Stunde auftritt. Bei dieser Sachlage schien es uns wissenswert zu untersuchen, ob sich Unterschiede in der postcoenalen Harnstoffkurve normaler Individuen und kranker finden lassen, speziell ob die Harnstoffkurve durch Verabreichung einer außerhalb des Organismus weit abgebauten Nahrung beeinflußbar sei und ob sich durch Vergleich der Kurven nach Normalkost und nach abgebauter Kost, bei Gesunden und Kranken ein Einblick in die Abbauvorgänge des Organismus gewinnen lasse.

Da die Kontrollierung der stündlichen Harnstoffausscheidung nach jeder einzelnen Mahlzeit die Versuchsanordnung kompliziert hätte, so haben wir es der Einfachheit wegen vorgezogen, das Experiment auf die Bestimmung nach einer einzigen Mahlzeit zu beschränken.

Wie aus der vorhin erwähnten Arbeit von Haas hervorgeht, wäre es für diesen Zweck fehlerhaft gewesen, einfach den Urin nach dem Essen zu untersuchen, da bei einem solchen Vorgehen die Harnstoffdepots des Organismus zunächst ausgeschwemmt worden wären und störend auf die bezweckte Beobachtung hätten wirken können.

Es genügt die Verabreichung von 1 l Flüssigkeit, um den Organismus seiner stickstoffhaltigen Depots zu entledigen. Unsere Versuchsanordnung war im speziellen folgende:

Frühstück $^1/_4 7^h$: ca. 300 ccm Tee mit Zucker, 1 Semmel.
9^h: 300 ccm Tee, 200 ccm Wasser.
$^3/_4 12^h$: 1 Griessuppe (250 ccm Flüssigkeit), 1 Naturschnitzel (130 g roh gewogen), 1 Kompott (50 g), 1 Glas Wasser (150 ccm). } = ca. 4 g N,
Nachmittag: Stündlich 1 Glas Wasser (je 150 ccm).
6^h: Nachtmahl.

Es wurde vormittag 2stündlich, von 1^h bis 6^h stündlich der Urin gesammelt. Die Stickstoffbestimmung wurde teils nach Knoop-Hüfner, teils nach Kjeldahl durchgeführt.

Zunächst wurde diese Versuchsanordnung bei normalen Individuen erprobt.

Wie die Tabellen I und II lehren, wurden bei dieser Versuchsanordnung bei derselben Versuchsperson an verschiedenen Tagen im wesentlichen gleichsinnige Kurven erhalten. Allerdings sind die Zahlen, wenn man die korrespondierenden Stunden

miteinander vergleicht, nicht immer übereinstimmend, so daß z. B. an einem Tag das Maximum in der 4., am andern in der 5. Stunde erscheint; die Form der Kurve, d. h. das Ansteigen bis zur 4. bis 5. Stunde ist konstant. Die Harnstoffbestimmungen der Tabelle I wurden bei einem ca. 40jährigen Mann mit einem Körpergewicht von 75 kg angestellt; die Versuchsperson stand bei sonst vollkommen normalem Befund mit einer traumatischen Lähmung des Nervus radialis in Spitalspflege.

Tabelle I.

Stündliche Harnstoffausscheidung nach vormittägiger Ausschwemmung und Einführung einer Normalkost bei einem gesunden Individuum.

Stunde	Harn-Menge in ccm	Harnstoff-Gehalt in g	Harnstoff-N-Gehalt in g	Harnmenge in ccm	Harnstoff-Gehalt in g	Harnstoff-N-Gehalt in g
10	300	2,88	1,34	170	2,73	1,27
1/2 12	170	2,1	0,98	170	2,83	1,32
3/4 12	Verabreichung der Normalkost					
1	125	1,7	0,79	112	2,0	0,93
2	210	2,01	0,93	125	2,3	1,07
3	175	2,2	1,02	200	3,6	1,68
4	290	3,5	1,63	170	2,9	1,35
5	250	1,6	0,74	210	1,4	0,65
6	200	1,9	0,88	240	1,8	0,84

Tabelle II.

Stündliche Stickstoffausscheidung nach vormittägiger Ausschwemmung und Einführung einer Normalkost bei einem gesunden Individuum.

Stunde	Harnmenge in ccm	Stickstoffgehalt in g
8	700	1,00
10	600	1,534
1/2 12	300	0,52
3/4 12	Verabreichung der Normalkost	
1	60	0,4557
2	64	0,5295
3	60	0,4731
4	94	0,6268
5	130	0,32
6	245	0,49

Die Tabelle II zeigt die Kurve eines 16jährigen gesunden Knaben (Körpergewicht 40 kg), der über leichte Muskelschmerzen klagte, bei diesem wurden Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl ausgeführt.

Die Form der Kurven ist gleichsinnig, die absoluten Werte auf Stickstoff berechnet zeigen erhebliche Unterschiede, indem

der erste Fall bei gleicher Menge eingeführten N viel mehr N ausscheidet als der zweite.

Der Unterschied kann zum Teil darauf zurückzuführen sein, daß der Knabe — in einer Periode des Wachstums — einen Teil des eingeführten N apponierte, zum Teil auf die große Differenz in den Körpergewichten. Trotzdem werden auch bei dem Knaben 65% des eingeführten N nach 7 bis 8 Stunden ausgeschieden, ein Wert, den Haas konstant bei seinen Normalversuchen gefunden hat.

Um eine möglichst einwandfreie Kontrolle dafür zu haben, daß tatsächlich ein großer Teil des Nahrungsstickstoffes in den ersten 7 Stunden resorbiert wurde, haben wir einen stickstoffarmen Tag bei einigen Versuchspersonen eingeschaltet; trat eine erhebliche Differenz der beiden Ausscheidungswerte auf, so mußte das für uns ein Beweis sein, daß mindestens der größte Teil der Nahrung resorbiert worden war.

Tabelle III.

Vergleich der Harnstoff-N-Ausscheidung nach Verabreichung einer Normalkost und einer stickstoffarmen Nahrung bei einem gesunden Individium an 2 aufeinander folgenden Tagen.

Stunde	Harnmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g	Harnmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g
8	180	1,8	0,83	125	1,36	0,63
10	350	2,7	1,26	150	1,20	0,56
1/2 12	250	2,1	0,98	126	1,16	0,54
	Verabreichung einer stickstoffarmen Kost			Verabreichung einer Normalkost		
1	154	1,2	0,56	320	2,88	1,3
2	156	1,13	0,52	250	2,1	0,95
3	340	2,38	1,11	360	3,2	1,45
4	254	1,47	0,68	150	0,9	0,4
5	400	1,6	0,74	320	1,3	0,55
6	200	0,8	0,37	400	1,9	0,85

Tatsächlich zeigte sich eine Differenz, die nahezu der zu erwartenden entspricht. Daß sie nicht ganz den 65% des eingeführten Stickstoffes entspricht — es wurde auch am stickstoffarmen Tag ca. 1 g Stickstoff eingeführt —, kommt für uns kaum in Betracht, und wenn ein kleiner Teil des Stickstoffes nicht resorbiert oder apponiert wurde, so kann das unsere Versuche nicht störend beeinflussen, da es uns weniger auf die absolute Größe als auf die Kurve der ausgeschiedenen Harnstoffwerte ankam.

Versuche bei kranken Individuen.

Nachdem wir unsere Versuchsanordnung beim Gesunden erprobt hatten, wiederholten wir diese Versuche — Verabreichung einer Normalkost mit 4 g Stickstoff und Untersuchung der stündlichen Harnstoffausscheidung nach vorheriger Ausschwemmung bei verschiedenen pathologischen Zuständen.

Tabelle IV.

Harnstoffkurven bei verschiedenen pathologischen Zuständen.

Stunde	Arthritis			Emphysem Bronchitis			Lues		
	Urinmenge	Gehalt an Harnstoff	Gehalt an Harnstoff-N	Urinmenge	Gehalt an Harnstoff	Gehalt an Harnstoff-N	Urinmenge	Gehalt an Harnstoff	Gehalt an Harnstoff-N
	in ccm	in g	in g	in ccm	in g	in g	in ccm	in g	in g
8	500	2,0	0,93	960	4,0	1,86	175	1,8	0,88
10	500	1,8	0,84	930	4,0	1,86	250	2,7	1,26
1/2 12	150	1,3	0,60	260	2,0	0,93	490	1,0	0,46
3/4 12	Verabreichung einer Normalkost								
1	60	0,77	0,35	500	2,0	0,93	105	1,76	0,82
2	74	0,61	0,28	85	1,8	0,84	230	1,62	0,75
3	150	0,45	0,21	195	1,56	0,72	350	1,55	0,72
4	300	1,2	0,56	400	1,6	0,74	178	2,0	0,93
5	150	0,45	0,21	400	2,4	1,12	45	0,93	0,43
6	150	0,3	0,14	400	1,6	0,74	380	1,44	0,67

Stunde	Lues			Bronchitis purul.			Basedow		
	Urinmenge	Gehalt an Harnstoff	Gehalt an Harnstoff-N	Urinmenge	Gehalt an Harnstoff	Gehalt an Harnstoff N	Urinmenge	Gehalt an Harnstoff	Gehalt an Harnstoff-N
	in ccm	in g	in g	in ccm	in g	in g	in ccm	in g	in g
8	140	1,0	0,46	250	1,6	0,7	370	2,2	1,02
10	160	0,9	0,42	520	1,8	0,84	500	1,8	0,88
1/2 12	100	1,7	0,79	480	0,7	0,33	510	1,2	0,56
3/4 12	Verabreichung einer Normalkost								
1	80	1,3	0,6	90	0,71	0,33	142	1,6	0,74
2	65	1,1	0,51	150	0,93	0,48	100	1,5	0,7
3	70	1,33	0,62	255	1,12	0,52	54	1,0	0,46
4	190	1,9	0,88	220	1,1	0,51	97	2,0	0,93
5	280	1,6	0,74	330	0,99	0,46	86	1,2	0,56
6	300	1,2	0,56	235	0,98	0,45	100	0,9	0,42

Zur Untersuchung gelangten ein Fall von Morb. Basedow, Bronchitis Emphysem, zwei Luesfälle, eine Bronchitis purulenta, eine Arthritis, ein Diabetes insipidus. Zwei Gesichtspunkte waren für die Wahl der Fälle maßgebend.

1. Sie mußten afebril sein, da größere Fieberbewegungen die Kurve erheblich beeinflussen können.

2. Sie durften keine Diarrhöen haben, da sonst ein zu großer Teil des eingeführten Stickstoffes sich der Resorption entzogen hätte.

Wie aus den Tabellen hervorgeht, resultieren bei verschiedenen pathologischen Fällen Kurven, die mit denen normaler Individuen vollkommen übereinstimmen. Dasselbe Bild bietet die Harnstoffausscheidung rekonvaleszenter Individuen.

Tabelle V.

Vergleich der stündlichen Harnstoffausscheidung bei zwei rekonvaleszenten Individuen.

Stunde	Harnmenge in ccm	Harnstoffgehalt in g	Harnstoff-N-Gehalt in g	Harnmenge in ccm	Harnstoffgehalt in g	Harnstoff-N-Gehalt in g
8	130	2,34	1,09	470	1,55	0,72
10	510	2,45	1,14	420	1,38	0,64
1/2 12	315	1,0	0,46	800	1,28	0,59
3/4 12	Verabreichung einer Normalkost					
1	90	1,53	0,71	180	0,9	0,46
2	300	1,2	0,56	175	0,87	0,4
3	260	1,5	0,70	115	0,92	0,43
4	260	1,82	0,85	400	1,6	0,74
5	200	1,4	0,65	150	0,8	0,37
6	100	1,1	0,56	110	0,7	0,32

Weitere Versuche stellten wir an Carcinomkranken (als Typen stärkster Kachexien) an.

Tabelle VI.

Harnstoffkurven carcinomatös Erkrankter.

Stunde	Ca-recti.			Ca-ventric.		
	Urinmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g	Urinmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g
8	330	2,09	0,97	145	0,25	0,11
10	274	1,74	0,81	250	0,7	0,37
1/2 12	294	1,94	0,9	260	0,28	0,13
3/4 12	Verabreichung einer Normalkost					
1	62	0,558	0,26	55	0,44	0,20
2	62	1,108	0,51	50	0,7	0,37
3	160	0,98	0,45	60	0,6	0,28
4	230	1,15	0,53	40	0,56	0,26
5	320	1,6	0,74	165	1,2	0,56
6	150	1,57	0,73	250	1,2	0,56

Diese Kurven bieten eine gewisse Unklarheit, der Anstieg setzt relativ spät ein, und das verspätete Maximum in der 6. Stunde deutet vielleicht auf eine verlangsamte Resorption.

Die Schwierigkeit, die sich immerhin bei unserer Versuchsanordnung für die herabgekommenen Patienten ergaben, machten

es uns vorläufig unmöglich, die Versuche bei Ca-Erkrankten fortzuführen.

Doch zeigt sich auch aus dem vorliegenden Verhalten, daß die Kachexie allein nicht eine Kurve bedingt, die der normalen zuwiderläuft.

Vergleichen wir die Harnstoffausscheidungskurven der verschiedensten pathologischen Zustände untereinander und mit der Kurve gesunder Individuen, so finden wir, mit Ausnahme nicht wesentlicher Differenzen, bei allen eine der normalen gleich gerichtete Kurve.

Versuche bei Tuberkulösen.

Ein durchaus anderes Bild zeigen Kurven tuberkulös erkrankter Individuen; wir lassen eine Anzahl solcher Kurven folgen.

Zur Untersuchung gelangten Tbk.-Erkrankte in den verschiedensten nicht fieberhaften Stadien des pathologischen Prozesses.

Tabelle V I.

Harnstoffkurven bei verschiedenen Fällen von Tbk.-Erkrankungen.

Stunde	1.			2.			3.			4.		
	Harnmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g	Harnmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g	Harnmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g	Harnmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g
8	360	2,8	1,31				375	1,5	0,7	460	1,6	0,74
10	475	1,9	0,88	400	2,0	0,93	672	2,68	1,25	520	2,8	1,31
1/2 12	400	2,0	0,93	510	1,6	0,74	400	0,8	0,37	250	1,5	0,7
3/4 12	Verabreichung einer Normalkost											
1	475	1,9	0,88	160	1,44	0,67	255	1,38	0,64	112	1,53	0,71
2	110	1,53	0,71	350	1,4	0,65	510	1,2	0,36	210	1,36	0,63
3	220	1,12	0,52	215	1,07	0,5	120	0,6	0,28	230	1,15	0,53
4	185	0,74	0,34	115	0,57	0,26	135	0,86	0,4	190	1,33	0,62
5	600	1,5	0,7	265	0,795	0,37	475	1,18	0,55	190	0,57	0,26
6	190	0,95	0,44	215	0,42	0,19				300	0,6	0,28
	5.			6.			7.			8.		
8	250	1,4	0,65	200	2,6	1,21	320	5,4	2,52	300	3,0	1,37
10	242	3,6	1,68	500	3,8	1,77	430	2,8	1,3	475	2,0	0,93
1/2 12	250	1,8	0,84	250	2,8	1,3	290	2,0	0,93	380	4,5	2,1
3/4 12	Verabreichung einer Normalkost											
1	185	1,48	0,68	210	1,6	0,74	120	1,55	0,72	170	1,9	0,88
2	275	1,37	0,64	75	1,1	0,51	290	1,45	0,67	220	1,54	0,71
3	200	1,2	0,56	215	1,29	0,6	242	0,89	0,41	200	1,2	0,56
4	200	0,9	0,42	325	1,3	0,6	240	1,2	0,56	280	0,84	0,37
5	250	1,25	0,58	210	1,26	0,58	250	1,2	0,56	250	0,75	0,35
6	500	1,2	0,56	500	1,3	0,6	300	1,2	0,56	300	0,5	0,23

Bei diesen Tabellen sieht man trotz genügender Ausschwemmung — es wurde mit einer Flüssigkeitsmenge von 1000 ccm eine Diurese von 700 bis 1500 ccm erzielt — nur ein deutliches Maximum.

Die Kurve zeigt ein dem normalen vollkommen entgegengesetztes Verhalten, indem nach 1 Stunde das Maximum der Harnstoffausscheidung erreicht wird und von da an ein gleichmäßiges oder durch geringe Schwankungen unterbrochenes Absinken stattfindet.

Die absoluten Größen dieser Zahlen sind in einigen Fällen mit Körpergewichtszunahme etwas geringer als zu erwarten war. Da die Nahrungsaufnahme unter persönlicher Kontrolle stattgefunden hat, so muß diese Minderausscheidung auf gesteigerte Assimilation bezogen werden. Zur Feststellung der Konstanz dieser Erscheinung haben wir bei zwei Fällen auch 2 Tage hintereinander Versuche angestellt.

Tabelle VIII.

Harnstoff-N-Kurven zweier Phthisiker an 2 aufeinander folgenden Tagen.

Stunde	Harnmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g	Harnmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g	Harnmenge in ccm	Gehalt an N in g	Harnmenge in ccm	Gehalt an N in g
8	100	1,66	0,77	130	1,5	0,7	60	0,685	500	0,9
10	255	2,0	0,93	175	1,4	0,65	250	0,91	200	1,1
1/2 12	190	1,0	0,46	220	2,0	0,93	335	0,69	350	0,85
3/4 12	Verabreichung einer Normalkost									
1	90	1,17	0,54	125	1,29	0,6	140	0,573	110	0,771
2	160	0,48	0,22	210	0,84	0,39	84	0,411	70	0,255
3	260	0,78	0,34	165	0,66	0,31	300	0,467	106	0,403
4	215	0,86	0,4	235	0,92	0,43	310	0,477	160	0,42
5	290	0,58	0,27	250	0,75	0,35	290	0,452	350	0,459
6	245	0,73	0,34	60	0,3	0,14	300	0,406	110	0,545

Auch hier haben wir Kontrolltage mit N-armer Kost eingeschoben; diese folgen nach.

Tabelle IX.

Vergleich der Harnstoffkurven und N-Kurven nach Verabreichung unserer Normalkost und einer N-armen Kost bei zwei tuberkulösen Individuen.

Stunde	Harnmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g	Harnmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff in g	Gehalt an Harnstoff-N in g	Harnmenge in ccm	Gehalt an N in g	Harnmenge in ccm	Gehalt an N in g
8	100	1,66	0,77	145	1,5	0,7	300	1,8	150	2,0
10	255	2,0	0,93	115	1,7	0,79	200	2,2	170	1,8
1/2 12	190	1,0	0,46	304	1,6	0,74	350	1,9	110	0,8
3/4 12	Verabreichung einer Normalkost			Verabreichung einer N-armen Kost			Verabreichung einer Normalkost		Verabreichung einer N-armen Kost	
1	90	1,17	0,54	50	0,7	0,32	110	0,771	120	0,51
2	160	0,48	0,22	125	0,62	0,21	70	0,255	150	0,448
3	260	0,78	0,37	30	0,5	0,23	106	0,403	220	0,377
4	215	0,86	0,4	360	0,36	0,26	160	0,42	410	0,38
5	290	0,58	0,27	94	0,47	0,2	350	0,459	40	0,2
6	245	0,73	0,34	110	0,3	0,14	110	0,545	300	0,277

Auch diese Tabellen beweisen, daß die Resorption des eingeführten Stickstoffes größtenteils stattgefunden hat.

Versuche mit Einführung abgebauter Nahrung.

Nach diesen Feststellungen haben wir gemäß unseres Arbeitsplanes unseren Versuchspersonen eine außerhalb des Organismus weit abgebaute Nahrung verabreicht. Bezüglich der Art dieser Nahrung waren verschiedene Möglichkeiten gegeben. Meistens versteht man darunter ein so weit durch Fermente abgebautes Eiweiß, daß die Biuretreaktion nicht mehr gut nachweisbar ist, wie dies erzielt werden kann, wenn man Pankreas wochenlang der Autolyse unterwirft. Da es uns nur darauf ankam, den natürlichen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen, konnte eine Verdauung von dreiwöchiger Dauer nicht in Betracht kommen.

Wir haben 1 kg Kalbfleisch 24 Stunden der peptischen Verdauung unterworfen und nach einer durch Dialyse hervorgerufenen Entfernung der Salze einer 36 Stunden dauernden tryptischen Verdauung unterzogen.

Die resultierende Flüssigkeit war albumosenfrei. Sie wurde auf 400 ccm eingeengt und zeigte einen Gesamtstickstoffgehalt von 18,816 g, was einem Eiweißgehalt von 116,71 g entspricht. Die Zusammensetzung war folgende:

Gesamtstickstoff . . . . . 4,95 g N %
N des Gerbsäure-Niederschlages . . . . . 0,95 „ „ „
N des Phosphorwolframsäure-Niederschlages . 1,5 „ „ „
N des Phosphorwolframsäure-Filtrates . . . . 2,5 „ „ „

Es zeigte sich, daß ungefähr die Hälfte des vorhandenen Stickstoffes der Amidosäurefraktion, ein Drittel der Diamidosäurenfraktion angehört, also 5/6 des eingeführten Stickstoffes in einer weit abgebauten Form zur Aufnahme gelangen.

Die Verabreichung der abgebauten Nahrung geschah in der Weise, daß einer stickstoffarmen vegetabilischen Nahrung (Reis und Erdäpfel) so viel des abgebauten Materials beigemischt wurde, daß der Stickstoffgehalt unserer Normalkost erreicht war. Die Nahrung, die einen an Fleischextrakt erinnernden Geschmack und Geruch besaß, wurde gern genommen und gut vertragen. Die nachstehende Tabelle gibt die Ausscheidungskurve, und wir fügen zum besseren Vergleich die schon früher erwähnte eines Normalkosttages bei.

Tabelle X.

Vergleich der N-Ausscheidung nach Einführung einer Normalnahrung und einer Nahrung in weit abgebauter Form bei einem gesunden Menschen.

Stunde	Normale Kost		Abgebaute Nahrung	
	Urinmenge in ccm	N-Werte in g	Urinmenge in ccm	N-Werte in g
8	700	1,0	300	1,2
10	600	1,534	400	1,6
1/2 12	300	0,52	420	1,3
3/4 12	Einführung der Kost			
1	60	0,4557	76	0,8
2	64	0,5295	53	0,597
3	60	0,4731	370	0,569
4	94	0,6268	370	0,54
5	130	0,32	150	0,52
6	245	0,49	200	0,32

Tabelle XI.

Vergleich der N-Ausscheidung nach Einführung einer Normalnahrung und einer Nahrung in weit abgebauter Form bei einem gesunden Menschen.

Stunde	Normalkost			Abgebaute Nahrung		
	Urinmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff	N	Urinmenge in ccm	Gehalt an Harnstoff	N
8				80	1,4	0,65
10	300	2,88	1,35	288	4,3	2,0
1/2 12	170	2,1	0,98	140	2,0	0,93
3/4 12	Einführung der Kost					
1	125	1,705	0,79	170	2,784	1,25
2	210	2,01	0,93	145	2,8	1,3
3	175	2,21	1,0	120	2,228	1,03
4	290	3,5	1,63	95	1,967	0,91
5	250	1,6	0,74	115	1,185	0,55
6	200	1,46	0,68	120	1,172	0,54

Die Kurve nach abgebauter Nahrung zeigt einen der sonstigen Harnstoffausscheidung vollkommen entgegengesetzten Charakter. Wir sehen nämlich in der 1. bis 2. Stunde die höchsten Ausscheidungswerte.

Mit Rücksicht auf die naheliegende Vermutung, daß diese Verschiebung lediglich auf die früher eintretende Resorption vom Darm aus zurückzuführen sei, haben wir bei beiden Versuchen der Nahrung 1 g Salol beigefügt.

In beiden Fällen zeigte sich die Salicylsäurereaktion nach der 2. Stunde gleich deutlich, so daß also das frühere Auftreten des Harnstoffmaximums nicht auf den früheren Eintritt der abgebauten Nahrung in den Darm bezogen werden kann.

Die nächste Tabelle gibt denselben Befund bei einem Diabetes insipidus, einem Beispiel einer starken Durchschwemmung des Organismus.

Tabelle XII.

Vergleichskurven eines Normalkosttages und eines Tages mit abgebauter Nahrung bei einem Diabetes insipidus.

Stunde	Normalkost			Abgebaute Nahrung		
	Harnmenge	Gehalt an Harnstoff	N	Harnmenge	Gehalt an Harnstoff	N
8	800	3,5	1,63	700	4,0	1,86
10	900	5,0	2,34	550	3,2	1,49
1/2 12	450	2,8	1,3	280	2,9	1,35
3/4 12	Verabreichung der Kost					
1	180	2,8	1,3	200	3,3	1,54
2	200	1,9	0,88	250	3,0	1,4
3	350	3,5	1,63	400	2,5	1,16
4	280	2,9	1,35	150	1,8	0,84
5	190	2,0	0,93	300	2,3	1,07
6	150	1,9	0,88	400	2,0	0,93

Wir gaben nun zwei tuberkulösen Individuen abgebaute Nahrung in der schon besprochenen Versuchsanordnung.

Tabelle XIII.

Vergleich der Harnstoffausscheidung nach Verabreichung unserer Normalkost und einer weit abgebauten Nahrung bei einem Phthisiker.

Stunde	Normalkost			Abgebaute Nahrung		
	Urinmenge	Gehalt an Harnstoff	N	Urinmenge	Gehalt an Harnstoff	N
8	100	1,66	0,77	60	0,8	0,37
10	255	2,0	0,93	74	1,2	0,56
1/2 12	190	1,0	0,46	106	1,1	0,51
3/4 12	Verabreichung der Kost					
1	90	1,17	0,54	140	1,12	0,52
2	160	0,48	0,22	154	0,96	0,44
3	260	0,78	0,37	82	0,91	0,42
4	215	0,86	0,4	110	0,66	0,31
5	290	0,58	0,27	230	0,9	0,42
6	245	0,73	0,34	55	0,3	0,14

Tabelle XIV.

Vergleich der N-Ausscheidung nach Verabreichung unserer Normalkost und einer weit abgebauten Nahrung bei einem Phthisiker.

Stunde	Normalkost		Abgebaute Nahrung	
	Urinmenge	N-Gehalt	Urinmenge	N-Gehalt
8	60	0,685	80	0,8
10	250	0,91	300	1,02
1/2 12	335	0,689	240	0,9
3/4 12	Verabreichung der Kost			
1	110	0,771	130	0,726
2	70	0,255	160	0,616
3	106	0,403	220	0,61
4	160	0,42	160	0,458
5	350	0,459	270	0,358
6	110	0,545	340	0,458
7	100	0,332	295	0,362

Bei der Betrachtung der voranstehend angeführten Resultate fällt am meisten das so verschiedene Verhalten der untersuchten Fälle von tuberkulös Erkrankten gegenüber gesunden Individuen auf.

Während wir bei gesunden einen außerordentlichen Unterschied finden, ob wir ihnen die gleichen Stickstoffmengen in Form von Normalkost oder weit abgebauter Eiweißnahrung einverleiben, ein Unterschied, der in den angeführten Harnstoffkurven prägnant zum Ausdruck kommt, fanden wir bei Tuberkulösen einen vollständig gleichen Verlauf der beiden Kurven in dem Sinne, daß das Maximum in die 1. bis 2. Stunde fällt; somit gleicht die Kurve jener, die man erhält, wenn man ge-

sunden Individuen oder anderen pathologischen Fällen abgebaute Nahrung verabreicht.

Wir stehen also vor dem Resultat, daß es bei den Tuberkulösen für die Harnstoffkurve fast gleichgültig ist, ob wir Normalnahrung oder abgebaute Nahrung verabreichen, d. h. daß der Harnstoff auch bei Normalnahrung ebenso rasch im Harn erscheint wie bei abgebauter Nahrung.

Dieses auffallende Resultat konnte nun sowohl von dem Abbau im Darmrohr als auch von dem Abbau in den Geweben herrühren. Die Entscheidung darüber wird dadurch leicht gemacht, daß ja die Darmverdauung dem Abbau in den Geweben zeitlich vorangehen muß und bei einem normalen Ablauf der Darmverdauung in der 1. bis 2. Stunde noch gar nicht so viel Stickstoff zur Resorption gelangt sein könnte. So müssen wir die Ursache dieses auffallenden Verhaltens in einer Anomalie der Verdauungsfähigkeit sehen.

Es wäre möglich, daß die Verdauung der Normalkost exzessiv beschleunigt ist, oder daß sie abnormal verläuft, d. h. zu gesteigertem Eiweißabbau, also zu ähnlichen Produkten führt, wie wir sie in der abgebauten Nahrung eingeführt haben. Die letztere Möglichkeit erscheint uns als die wahrscheinlichere. Keinesfalls liegt ein Grund vor, dieselbe als spezifisch für die Tuberkulose zu halten.

Schlußsätze.

Als Resultate der vorstehend angeführten Untersuchungen lassen sich folgende Momente feststellen:

1. Die Beobachtung der stündlichen postcoenalen Harnstoffausscheidung zeigt nicht nur eine konstante Kurve bei normalen Individuen, sondern auch eine konstante Abweichung gegenüber der Norm bei gewissen pathologischen Zuständen.

2. Bei normalen Individuen finden wir (in Übereinstimmung mit Haas) nach vorheriger Ausschwemmung und Einverleibung einer stickstoffhaltigen Normalkost ein Maximum in der 4. bis 5. Stunde.

3. Bei einer Reihe pathologischer Zustände fand sich trotz schwerer klinischer Krankheitserscheinungen nach Verabreichung

derselben Normalkost und unter gleichen Versuchsbedingungen keine Änderung.

4. Nach Verfütterung stickstoffhaltiger Nahrung in Form weit abgebauten Eiweißes fand sich im Gegensatz zu den sub I und II angeführten Resultaten ein verfrühtes Auftreten des Maximums, d. h. die größte Harnstoffausscheidung in der 1. bis 2. Stunde.

5. Bei tuberkulös Erkrankten fand sich bei Normalkost ein gleiches Verhalten wie bei abgebauter Nahrung, nämlich ein Maximum in der 1. bis 2. Stunde, was auf eine Anomalie der Verdauung bei diesen Kranken deutet.

Beziehungen zwischen Trypsin und Erepsin.

Von

Karl Glaeßner und Alice Stauber.

(Aus dem chemisch-pathologischen Institute der k. k. Krankenanstalt Rudolfstiftung, Wien.)

(Eingegangen am 18. März 1910.)

Im Jahre 1901 hat Cohnheim[1]) eine Studie veröffentlicht, die sich mit der Verdauung des Eiweißes durch die Darmwand beschäftigt. Er kam dabei zu außerordentlich interessanten Ergebnissen, die der Darmwand eine neue, höchst wichtige Funktion zuwiesen. Cohnheim konnte feststellen, daß sich im Extrakt der Darmschleimhaut ein fermentartiger Körper nachweisen lasse, dessen charakteristische Eigenschaften folgende sind: er verhält sich gegen natives Eiweiß indifferent, vermag aber Deuteroalbumosen und Peptone in kurzer Zeit in biuretfreie Modifikationen überzuführen. In späteren Arbeiten konnte der Autor die Grundlagen dieser Ansicht stützen; er wies darauf hin, daß nicht nur in der Darmschleimhaut, sondern auch im Darmsaft dieses Albumosenferment sich nachweisen lasse, er konnte zeigen, daß es in abgebundenen Darmschlingen vorkommt, und daß es nach Entfernung des Pankreas beim Hunde einige Tage nach der Exstirpation im Darm noch vorgefunden wird. Der Autor nannte den fermentartigen Stoff, der bei neutraler und schwach alkalischer Reaktion seine Wirkung entfaltet, Erepsin (von ἐρείπω — ich spalte). Vom Trypsin unterscheidet sich dieses Ferment nach der Ansicht Cohnheims durch folgende Momente: Während Trypsin native Eiweißkörper angreift, ist Erepsin in bezug auf Eiweiß unwirk-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 451, 1901.

sam, andrerseits ist Trypsin gegen Albumosen und Peptone indifferent, während Erepsin diese in kurzer Zeit in die Endprodukte zerschlägt.

Diese Mitteilungen riefen begreifliches Interesse hervor, und es folgte eine große Zahl nachprüfender Arbeiten. Eine Anzahl von Autoren konnte die Anschauungen Cohnheims zum Teil bestätigen.

Wir nennen Lambert[1]), Weinland[2]), Foà[3]), beim Säugling Langstein und Soldin[4]) und Falloise[5]).

Lambert zeigte, daß eine 2%ige Syntonin-Peptonlösung mit dem gleichen Volumen Darmextrakt gemischt, nach drei Tagen die Biuretreaktion verlor, während Wittepepton erst nach mehreren Wochen so weit verdaut war.

Weinland machte die Beobachtung, daß Pepton allmählich durch Darmextrakte in biuretfreie Spaltungsprodukte übergeführt wird, ein Verhalten, das durch Sodazusatz verlangsamt wird. Doch denkt Verfasser, da sich das Pankreastrypsin ähnlich verhält, auch daran, ob nicht im Pankreassaft, ähnlich wie im Darmsaft, Erepsin enthalten sei.

Foà macht ebenso wie Kutscher und Seemann[6]) auf den Unterschied zwischen Darmsaft und Darmextrakt aufmerksam, letzterer ist wirksamer als der erstere, ein Verhalten, das auch Salaskin[7]) bestätigt. Auch bei Neugeborenen (Menschen und Tieren) konnten Langstein und Soldin das Ferment im Darmextrakt nachweisen; es fehlt indes bei unausgetragenen Foeten.

Falloise versuchte die Lokalisation der Erepsinausscheidung zu bestimmen. Er kommt zu dem Schluß, daß die Hauptmenge des Erepsins vom Jejunum, geringere Mengen vom Duodenum, die kleinsten vom Ileum erzeugt werden.

Die lymphoiden Organe (Peyerschen Plaques) spielen angeblich bei der Erepsinbildung keine Rolle.

---

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. 55, 418, 416, 1903.
[2]) Zeitschr. f. Biol. 45, 292, 1903.
[3]) Arch. fisiol. 5, Heft 1, 1908.
[4]) Jahrb. f. Kinderheilk. 67, 912, 1908.
[5]) Arch. intern. de Physiol. 2, 299.
[6]) Zeitschr. f. phys. Chem. 35, 432, 1902.
[7]) Zeitschr. f. phys. Chem. 35, 419, 1902.

Bald aber wurden Stimmen laut, die dem Erepsin des Darmes keine spezifische Wirkung einräumten. Erwähnt sei die Angabe von Vernon[1]), der das Erepsin auch in anderen Organen nachweisen konnte, am reichlichsten war der Erepsingehalt in der Niere, in der Darmschleimhaut und im Pankreas, weniger fermentreich Milz und Leber, fermentarm Herz, Skelettmuskel und Gehirn, noch ärmer das Blut. Ließen diese Versuche schon die Deutung zu, daß das Erepsin ein diffus verbreitetes Organferment sei, das nicht allein die Tätigkeit des Trypsins zu unterstützen habe und nicht lediglich als Verdauungsferment in Betracht käme, so zeigten die Versuche von Bayliss und Starling[2]), ferner von Castle und Loevenhart[3]), daß im Pankreas selbst schon beide Fermente, das Trypsin und das Erepsin nebeneinander vorkommen. Gegen diese Annahme hat Cohnheim[4]) Stellung genommen, der in einer Notiz mitteilt, daß auch der Darmextrakt eines durch sieben Tage pankreaslosen Hundes deutliche Erepsinwirkung zeigte.

Unterbindungen des Pankreasausführungsganges und Erepsinbestimmungen im Dünndarmextrakt bei Hunden wurden von Embden und Knoop[5]) ausgeführt, die eine Abnahme des Erepsingehaltes nach der Operation feststellen konnten. Im Gegensatz dazu behauptete Weekers[6]), daß der Erepsingehalt 8 bis 10 Tage nach der Pankreasunterbindung sich nicht verändert. Auch in einer Thiry-Vellaschen Fistel war der normale Erepsingehalt vorhanden.

Schon in älteren Arbeiten hatten Rosenberg[7]) und Sandmayer[8]) die merkwürdige Tatsache erwähnt, daß nach Pankreasgangunterbindung oder partieller Pankreasexstirpation die Eiweißverdauung im Anfang kaum leidet und erst in den späteren Stadien, wenn das Pankreas bzw. der Pankreasrest

[1]) Journ. of Physiol. 30, 330, 1903; 32, 33, 1904; 33, 81, 1905; Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 440, 1907.

[2]) Journ. of Physiol. 30, 61, 1904.

[3]) Amer. chem. Journ. 24, 491, 1900.

[4]) Zeitschr. f. phys. Chem. 36, 13; 47, 286; 49, 64, 1906; 51, 415, 1907; 52, 526, 1907.

[5]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 120, 1903.

[6]) Arch. intern. 2, 45 bis 53, 1904.

[7]) Pflügers Archiv 70, 419, 1902.

[8]) Zeitschr. f. Biol. 29, 86; 31, 12.

atrophiert ist, schwere Störungen der Eiweißresorption sich geltend machen.

Die Autoren führten dieses merkwürdige Verhalten darauf zurück, daß das Trypsin resorbiert und in den Darm ausgeschieden wurde. Dies konnte Brugsch[1]) widerlegen durch den Nachweis, daß eine tryptische Verdauung im Darm nicht stattfindet. Er erklärt die relativ gute Eiweißverdauung durch die vikariierende Wirkung des Erepsins.

Mit Rücksicht auf die Angaben in der Literatur, daß Darmsaft bedeutend schwächer wirkt als Extrakte von Darmschleimhaut, schien es uns zunächst geboten, die zwei Hauptabschnitte des Darmes, den Dünn- und Dickdarm auf ihren Erepsingehalt zu untersuchen. Als Versuchstiere wählten wir Kaninchen hauptsächlich aus folgendem Grund: Sie besitzen den Vorteil, im Gegensatz zum Hund und zu anderen Versuchstieren nur einen Pankreasausführungsgang zu besitzen, dessen Unterbindung den vollständigen Abschluß des Pankreassaftes gewährleistet. Wir gingen bei der Untersuchung auf das fragliche Ferment in der Darmschleimhaut ähnlich wie Cohnheim vor, indem wir bei dem durch Entbluten getöteten Tiere Dünn- und Dickdarm herauspräparierten, den Inhalt der Darmschlingen sorgfältig entfernten und gleiche Mengen der fein zerkleinerten Schleimhaut auspreßten und extrahierten. Die Extrakte wurden mit 5%igen Wittepeptonlösungen versetzt und 24 Stunden bei Bruttemperatur unter Toluolzusatz belassen. Dann wurden die Gemenge enteiweißt und im Filtrate die Biuretreaktion angestellt. Es ergab sich regelmäßig, daß der Dünndarmextrakt nach dieser Zeit ein deutliches Schwächerwerden bis Verschwinden der Biuretreaktion bewirkte, während der Dickdarm nur in sehr geringem Grade das Pepton zu spalten vermochte.

Quantitative Untersuchungen, die so angestellt wurden, daß das Filtrat nach der Koagulierung einerseits, daß Filtrat nach Koagulierung und Fällung mit Zinksulfat andererseits auf den Gehalt an N untersucht wurde, ergaben die folgenden Resultate. Es sei von den zahlreichen Versuchen einer hervorgehoben.

---

[1]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 6, 326, 1909.

	Nicht verdaut (Kontrolle)		Verdaut	
		$^n/_{10}$-Lauge		$^n/_{10}$-Lauge
N der nicht koagulablen Substanzen	Di I	8,0—8,1	Di II	7,9—8,0
	Dü I	9,2—8,6	Dü II	8,8—8,8
Zinksulfat Filtrat-N	Di Ia	3,2—3,2	Di IIa	6,1—5,8
	Dü Ia	3,3—3,5	Dü IIa	8,0—7,5

Es geht aus dieser Tabelle hervor, daß sowohl Dick- als Dünndarmextrakte imstande sind, Albumosen weiter abzubauen, so daß der durch Zinksulfat nicht mehr koagulable N beträchtlich anwächst. Es überwiegt aber der Dünndarm, wie aus dem Vergleich der Zahlen ersichtlich ist, um fast das Doppelte.

Andere gleichartige Versuche fielen in gleichem Sinne aus, so daß man den Schluß ziehen kann:

Beim Kaninchen wirken Dünn- und Dickdarm, ersterer aber stärker ereptisch.

In der Literatur finden sich Hinweise darauf, daß das Bacterium coli ein erepsinartiges Ferment produziert, das ähnlich wie die vorgenannten Extrakte Peptone und Albumosen spaltet. Es war nun nötig nachzusehen, ob nicht der Colibakteriengehalt der beiden Darmabschnitte ausschlaggebend ist für die spaltende Wirkung auf Albumosen. Es ergab sich, daß diese Anschauung, die von Escherich und Pfaundler[1]) erwähnt wird, daß nämlich Bacterium coli ereptisch wirkt, zu Recht besteht. Filtrate von Colibouillonkulturen spalteten tatsächlich Wittepeptonlösungen beträchtlich.

Auch durch Coli konnte die Biuretreaktion zum Verschwinden gebracht werden. Die Dünn- und Dickdarmwirkung ist jedoch nach unseren Untersuchungen nicht auf Coliwirkung zurückzuführen, denn Impf- und Zählversuche aus Dünn- und Dickdarmschleimhaut ergaben ein Überwiegen der Colibakterien im Dickdarm, wie es ja a priori anzunehmen war.

Das Albumosen spaltende Ferment des Dünn- und Dickdarmes wurde übrigens durch kurz dauernde Einwirkung von

[1]) Kolle-Wassermann, Handbuch der pathog. Organismen, 2, 370.

2‰ HCl oder schwachen Alkohollösungen unwirksam gemacht.

In den Literaturangaben zeigt sich das Bestreben der Autoren, die Albumosen spaltende Wirkung nicht nur auf den Dünndarm zu beschränken, sondern auch anderen Organen diese Fähigkeit zuzuweisen. Namentlich dem Pankreas bzw. dem Trypsin wird diese Fähigkeit zugesprochen.

Unsere eigenen Versuche bezogen sich einmal auf käufliches Trypsin, ferner auf Pankreassaftdrüsenextrakte, endlich auf Pankreassaft. Es zeigte sich, daß alle drei Pankreaspräparate neben der stark tryptischen auch eine deutlich ereptische Wirkung zeigten. Es wurde sowohl Fibrin gelöst, gekochtes Eiweiß verdaut, als auch Lösungen von Deuteroalbumosen (Pick) nach 19stündigem Stehen im Brutschrank in biuretfreie Körper übergeführt.

Aber auch das nach den Vorschriften Cohnheims hergestellte Pepsinpepton wurde nach kurzer Zeit durch die Trypsinpräparate in biuretfreie Spaltungsprodukte zerlegt.

1 kg Rindfleisch wurde fein gehackt, von Fett und Sehnen möglichst befreit, 2 Tage mit warmem Wasser unter Zusatz von Chloroform und Toluol digeriert, dann abgepreßt. Der Rückstand wurde einige Male mit Alkohol ausgezogen, dann im Soxhlet extrahiert. Es resultierte ein gelbliches Pulver. 290 g davon wurden mit 5 l 2%iger Oxalsäure angesetzt, 15 g Pepsinum germanicum hinzugesetzt und 11 Tage bei Brut- und 19 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann wurde die Flüssigkeit durch Zusatz von kohlensaurem Kalk von der Oxalsäure befreit, durch Eindampfen konzentriert und der Niederschlag abfiltriert. Die klare Lösung hatte eine dunkel bierbraune Farbe, neutrale Reaktion und einen N-Gehalt von 15,2 mg in 1 ccm.

Cohnheim hat als charakteristisch für den Unterschied zwischen Trypsin und Erepsin angenommen, daß Trypsin Eiweiß angreift, Peptone dagegen nicht spaltet, während Erepsin für Eiweiß unwirksam ist und nur die Albumosen angreift. Hatten wir nun durch den Nachweis, daß auch dem Trypsin ereptische Fähigkeiten zukommen, die Angaben Cohnheims modifiziert, so gelang es uns andererseits ein neues Unterscheidungsmerkmal zwischen tryptischer und ereptischer Wirkung aufzufinden.

Bekanntlich gibt es im Blutserum Stoffe, die geeignet sind, die verdauende Wirkung des Trypsins zu hemmen. Wird zu Trypsin eine entsprechende Menge Blutserum zugefügt, so wird dasselbe gegen Eiweiß unwirksam. Die Erepsinwirkung dagegen wird durch den Zusatz von Serum nicht tangiert. Man kann durch diese Methode tryptische und ereptische Wirkung scharf trennen. Man kann aber auch aus käuflichen Trypsinpräparaten nur den ereptisch wirkenden Anteil des Trypsins isolieren. Wir bringen einige diesbezügliche Versuche:

I. Serumwirkung auf Dünndarmerepsin. 10 ccm Dünndarmextrakt werden mit 5 ccm frischen Pferdeserums im Brutschrank stehen gelassen. Dann werden 0,5 ccm Pepsinpepton (Cohnheim) zugefügt. Die gleiche Menge Dünndarmextrakt wird mit 5 ccm destillierten Wassers gleichfalls in den Brutschrank gegeben und dann mit Pepton versetzt. Die Wirkung beider Proben ist ganz gleich, nach einer Stunde ist die Biuretreaktion verschwunden.

II. Albumosen spaltende Wirkung des Trypsins, Serumwirkung auf Pankreastrypsin.

25%ige Trypsinlösung ccm	Serum ccm	H_2O ccm	Deuteroalbumosen ccm	Zeit St.	Biuretreaktion
5	15	0	10	16	negativ
5	0	15	10	16	„
0	15	5	10	16	deutlich
0	0	20	10	16	sehr deutlich
5 (gekocht)	15	0	10		„ „

Die Trypsinlösungen wurden sehr konzentriert genommen, erstens wegen der darauffolgenden Verdünnung und zweitens weil nur bei hoher Konzentration die ereptische Wirkung rasch genug auftrat. Der letzte Versuch wurde angestellt, um nachzusehen, ob nicht die starke Eigenfarbe der Trypsinlösung allein imstande ist, die Biuretreaktion zu verdecken. Wenn man aber die Trypsinlösung durch Kochen unwirksam macht, dann Deuteroalbumosen zusetzt, so findet man nach 16 Stunden eine sehr deutliche Biuretreaktion.

Mettsche Eiweißröhrchen wurden von Trypsin und Wasser deutlich angedaut, nach Zusatz von Serum konnte man unter der Lupe kaum eine Andauung wahrnehmen.

Trypsinlösung ccm	Serum ccm	Wasser ccm	Cohnheims Pepton ccm	Zeit St.	Biuretreaktion
5 (25%)	10	0	0,5	3/4	fehlt
5 (25 „)	0	10	0,5	„	„
0	0	15	0,5	„	sehr deutlich
5 (15 „)	10	0	0,5	„	fehlt

Statt Pepton wurden einigen Verdauungsproben eine Fibrinflocke hinzugefügt, mit dem Ergebnis, daß die Trypsinlösung das Fibrin in längstens einer Stunde löste, während das mit Serum versetzte Trypsin es unangegriffen ließ.

Als Trypsinpräparate wurden sowohl das käufliche Trockenpräparat von Merck als auch Pankreatin Rhenania verwendet. Wir gaben dem Merckschen Präparate den Vorzug, weil Rhenaniatrypsin an und für sich eine deutliche Biuretreaktion zeigte, die auch nach dem Enteiweißen nicht vollständig verschwand. Versuche mit Pankreassaft vom Menschen und vom Hunde gaben im wesentlichen dieselben Ergebnisse, ebenso ein nach den Vorschriften Kühnes gewonnenes Pankreaspräparat.

Aus der Erwägung, daß die Eiweißverdauung nach Unterbindung des Pankreasganges zunächst kaum leidet und erst nach vollständiger Verödung des Pankreasparenchyms Ausfallserscheinungen auftreten, haben wir einer Anzahl (10) Kaninchen den Pankreasgang unterbunden. Bei Kaninchen ist die Auffindung des einzigen Ausführungsganges für den Geübten unschwierig. Der Pankreasgang ist als ein weißlicher, ca. 2 bis 3 mm dicker Strang von wechselnder Länge in einer Entfernung von 30 bis 40 cm vom Pylorus aufzusuchen.

Die Einmündung in den Darm ist durch eine dreieckige Verbreiterung des Ganges deutlich charakterisiert.

Wir haben zwei Serien dieser Versuche angestellt; bei der ersten Reihe der Unterbindungsversuche wurde der Pankreasgang bei seiner Einmündung in das Duodenum doppelt unterbunden und durchschnitten, bei der zweiten Versuchsreihe wurden vor der Durchschneidung in den zentralen Abschnitt

des Ganges nach dem Vorgange von Heß[1]), Gulecke[2]) und Sauerbeck[3]) verdünnte Säuren oder Paraffinum liquidum injiziert, um eine allmähliche Verödung der Läppchen herbeizuführen.

Die Tiere vertrugen die Unterbindung und Durchschneidung des Ganges ausgezeichnet. In den ersten Tagen nach der Operation ließ sich Zucker im Urin nachweisen, der später wieder verschwand. 2 bis 4 Wochen nach der Operation wurden die Tiere durch Entbluten getötet, der Dünndarm in der oben angeführten Weise verarbeitet und auf Erepsingehalt untersucht. Gleich gefütterte, etwa gleich große normale Kontrolltiere wurden in gleicher Weise behandelt. Es seien im folgenden einige Versuche im Detail wiedergegeben.

Versuch 1.

13. XI. 09. 2 Kaninchen wird aus der Ohrvene Blut entnommen, dann bei dem einen der Pankreasgang unterbunden.

24. XI. 09. Beide Kaninchen werden durch Entbluten getötet, der Dünndarm entnommen und in der üblichen Weise extrahiert.

Kaninchen	Darmsaft ccm	Wasser ccm	Pepton ccm	Zeit St.	Biuretreaktion
Normal	5	0	0,5	3/4	noch deutlich
Operiert	5	0	0,5	„	fehlt
Normal	5	0	0,5	8	„
Kontrolle	0	5	0,5	3/4	sehr deutlich

Das vor der Operation und das beim Entbluten entnommene Blut wurde dekantiert, das Serum zur Prüfung auf Erepsingehalt untersucht. Der in ähnlicher Weise wie mit Darmsaft vorgenommene Versuch ergab ein rascheres Verschwinden der Biuretreaktion bei Zusatz von Serum des operierten Tieres, als bei Versetzen mit dem Serum des Normaltieres, bzw. mit dem Serum vor der Operation.

Diese Versuche, denen wir noch eine Reihe anderer, gleichsinniger hinzufügen könnten, lassen zunächst erkennen, daß Unterbindung des Pankreasganges bzw. Ausschaltung des Pankreassaftes nicht nur keine Verminderung, sondern sogar

[1]) Münch. med. Wochenschr. 52, H. 14, 1905.

[2]) Arch. f. klin. Chir. 1908, 615.

[3]) Centralbl. f. Pathol. u. pathol. Anatomie 1908, 551.

eine Vermehrung der Albumosen zerstörenden Fähigkeit der Darmschleimhaut auslöst. Dies würde für eine vikariierende Tätigkeit der Darmdrüsen sprechen und zwanglos die Befunde Rosenbergs und Sandmayers von der guten Eiweißausnutzung erklären.

Aber so einfach liegt die Sache nicht. Der bereits von anderen Autoren und von uns erhobene Befund, daß auch dem Trypsin erepsinartige Eigenschaften zukommen, die Tatsache, daß im Blutserum der operierten Tiere sogar ein stärkerer Erepsingehalt als normaliter besteht, läßt auch an folgende Möglichkeit denken: Es könnte das Trypsin aus der durch die Unterbindung des Ganges gestauten Drüse retrograd in das Blut resorbiert, dort durch das Antiferment seiner tryptischen Eigenschaften beraubt werden und dann im Darm als Erepsin zur Ausscheidung gelangen. Das würde auch das Vorkommen des Erepsins in anderen Organen (Niere) erklären.

Daß diese Annahme nicht ganz von der Hand zu weisen ist, lehren Versuche, die wir zum Schlusse anführen möchten und die beweisen, daß allmähliche Ausschaltung des Pankreasparenchymes beim Kaninchen im Gegensatz zu dem Verhalten beim Hunde (nach Cohnheim) auch zur Sistierung der Erepsinproduktion im Darme führt.

Versuch 1.

Einem Kaninchen wurde der Pankreasgang unterbunden und in den zentralen Anteil eine dünne Schwefelsäure (2%) injiziert. Nach 2 Tagen erfolgte der Tod durch Fettnekrose der Pankreasläppchen.

Im Darm konnte Erepsin deutlich nachgewiesen werden.

Versuch 2.

Einem Kaninchen wurde am 3. I. 10 der Pankreasgang unterbunden und in den zentralen Anteil Paraffinum liquidum injiziert. Das Tier blieb zunächst gesund, allmählich im Verlauf der 4. Woche entwickelte sich ein schwerer Diabetes, in dessen Verlaufe das Tier bis zu 10% Zucker täglich ausschied. Es ist dies ein dem menschlichen Diabetes sehr ähnliches Krankheitsbild, und solche Tiere eignen sich in ausgezeichneter Weise zum Studium der diabetischen Stoffwechselstörungen; wir haben auch die Absicht, diese Art chronischer Glykosurie zum Ausgangspunkte einer größeren Versuchsreihe zu machen.

In der 8. Woche wurde das Tier getötet; das Pankreas fand sich vollständig atrophisch.

Die Drüsenläppchen waren teils verfettet, teils in bindegewebige Läppchen verwandelt.

Interessant und den obigen Prämissen entsprechend war, daß die Dünndarmschleimhaut Erepsin vermissen ließ.

Der Einwand der Inanition, der bei unserem Kaninchen wie bei jeder schweren Stoffwechselstörung gemacht werden könnte, ist unzutreffend, da im Darm reichlich Kot sich vorfand.

Schlußfolgerungen.

1. Dünn- und Dickdarm des Kaninchens enthalten in ihrer Schleimhaut ein Albumosen spaltendes Ferment, das im Dünndarme reichlicher vorhanden ist.

2. Die erepsinartige Wirkung der Colibakterien hat mit diesen Darmfermenten nichts zu tun.

3. Das Trypsin und die Pankreasdrüse hat außer der Trypsin- auch eine Erepsinkomponente.

4. Durch das im Blutserum vorhandene Antiferment läßt sich die tryptische und ereptische Wirkung separieren, indem Trypsin gehemmt wird, Erepsin nicht.

5. Kurze Zeit nach der Unterbindung des Pankreasganges (9 bis 21 Tage) findet man beim Kaninchen sowohl eine Vermehrung des Erepsingehaltes des Blutes, als auch eine Vermehrung des Erepsingehaltes des Darmes.

6. Nach Verödung der Pankreasdrüse durch Paraffininjektionen in den Gang verschwindet das Erepsin aus dem Darm.

Tierphysiologische Versuche über die Wirkung von Cyanamid und von einigen seiner Umsetzungsprodukte.

Von

A. Stutzer und J. Söll.

(Aus dem agrikultur-chemischen Institute der Universität Königsberg.)

(Eingegangen am 4. März 1910.)

Beim Überleiten von atmosphärischem Stickstoff über erhitztes Calciumcarbid erhält man Calciumcyanamid. Bei der fabrikmäßigen Herstellung ist in dem rohen Produkt, dem sog. „Kalkstickstoff", nebenbei Kohle und Ätzkalk im Überschuß vorhanden. Am wichtigsten ist die pflanzenphysiologische Wirkung des Produktes, das als Dünger mit Erfolg benutzt wird; es hat aber auch ein gewisses Interesse, die Wirkung des Cyanamids und einiger seiner Umsetzungsprodukte auf Tiere kennen zu lernen.

Im bakteriologischen Institute der Landwirtschaftskammer zu Danzig wurden mit dem rohen Kalkstickstoff Fütterungsversuche ausgeführt, um die Frage zu beantworten, ob dies Material nachteilig wirkt, wenn irgend welche Tiere zufällig Gelegenheit haben sollten, davon etwas zu verzehren. In der landwirtschaftlichen Praxis liegt hierzu die Möglichkeit vor, weil der Landwirt den Kalkstickstoff gebraucht.

Es sind Fütterungsversuche mit Meerschweinchen, weißen Ratten, Hühnern, Schweinen vorgenommen worden (P. Gordan, Nr. 4 der westpreuß. landw. Mitteilungen 1909). Der Bericht schließt mit den Worten: „Die gesundheitschädliche Wirkung des Kalkstickstoffs beruht in der Hauptsache nicht auf chemischen Zersetzungen, sondern auf mechanischen Einwirkungen, wie Darmverstopfung und dgl." Für uns haben diese in Danzig ausgeführten Versuche aus dem Grunde kein besonderes Interesse,

weil nicht feststeht, wieviel von der beobachteten Wirkung auf den Ätzkalk und wieviel auf das Calciumcyanamid zurückzuführen ist, es sollte eine praktische, aber keine wissenschaftliche Frage dadurch beantwortet werden.

Die von uns ausgeführten Versuche erstreckten sich auf Cyanamid, Dicyandiamid, Guanylharnstoff, Diguanidchlorhydrat, Guanylharnstoff-Sulfosäure und Guanido-Essigsäure.

1. Cyanamid.

Über die Wirkung des Cyanamids auf den tierischen Organismus liegen mehrere Beobachtungen vor, bei denen aber nicht immer genügende Garantie für die Reinheit des angewandten Cyanamids gegeben war.

Gergens und Baumann fanden bei Fröschen[1]), daß die Injektion in den Lymphsack Krämpfe, und bei einer Gabe von 20 mg den Tod bewirkte. Bei einem Kaninchen wirkten 0,5 g per os nach 12 Stunden tödlich. Nach R. Lange bleibt eine Injektion von 0,05 g Cyanamid bei Kaninchen wirkungslos.[2]) Nach Versuchen von Cöster waren die tödlichen Gaben bei subcutaner Injektion bei einem Kaninchen 0,3474 g, bei einer Maus 0,3329 g und bei einer Taube 0,3150 g für je 1 kg Körpergewicht.[2])

Eingehende Versuche sind in letzter Zeit von W. Stritt ausgeführt worden.[3]) Bei einem Teil der Versuche war das verwendete Cyanamid aus Äther umkrystallisiert und somit ganz rein. Bei Fröschen wirkte eine Injektion von 0,20 g für 1 kg Körpergewicht tödlich, bei Kaninchen von 0,10 g. (Cöster hatte erst bei 0,38 g tödliche Wirkung erzielt.) Nach Einführung in den Magen von Kaninchen war die tödliche Dosis 0,75 g für 1 kg Körpergewicht. Um das Cyanamid in seiner physiologischen Wirkung mit den übrigen von uns untersuchten Verbindungen vergleichen zu können, haben wir Versuche mit Meerschweinchen unter Eingabe per os angestellt, deren Ergebnisse in der folgenden Tabelle zusammengestellt sind.

---

[1]) E. Gergens und E. Baumann, Arch. f. d. ges. Physiol. 12, 205, 1876.

[2]) E. Cöster, Beitrag zur Wirkung des Cyanamids. Dissertation, Kiel 1896.

[3]) W. Stritt, Über die Giftwirkung usw. Dissert. Jena 1908.

Nr.	Gewicht d. Meerschweinchens g	Gegeben für 1 kg Körpergewicht g	Ergebnis
1	621	0,1	Ohne Wirkung
2	626	0,2	„ „
3	626	0,4	Nach 20 Min. wird der Herzschlag langsam, nach 30 St. tritt der Tod unter Krämpfen ein.
4	682	0,75	Nach 3/4 Stunden Lähmung, nach einigen Stunden Tod.
5	620	0,75	

Die tödliche Dosis war also 0,4 g Cyanamid für 1 kg Körpergewicht. Das Cyanamid war chemisch rein und vollständig frei von Dicyandiamid. Die Substanz wurde mit Dextrin und wenig Wasser in Pillenform gebracht und so in den Schlund geschoben.

2. Dicyandiamid und Guanylharnstoff (Dicyandiamidin).

Über die physiologische Wirkung dieser beiden Verbindungen liegen bisher nur sehr wenige Untersuchungen vor, und fast ausschließlich solche, bei denen die Substanzen unmittelbar in den Blutkreislauf gebracht wurden. Nach einem Versuch von Gergens und Baumann (l. c.) brachte 1 g Guanylharnstoffsulfat bei Kaninchen, subcutan angewendet, keine schädliche Wirkung hervor. Stritt (l. c.) stellte Versuche mit Dicyandiamid an. Bei Fröschen wirkten 0,100 g für je 50 g Körpergewicht tödlich (also 2 g für 1 kg Körpergewicht). Bei Kaninchen war die tödliche Dosis ungefähr 0,3 g Dicyandiamid für 1 kg Körpergewicht.

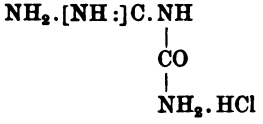
Im Gegensatz hierzu fand Löw[1]), daß eine Maus 2 g Dicyandiamid für 1 kg Körpergewicht nach subcutaner Injektion ertrug, ebenso 1 g Guanylharnstoffsulfat. Wurde die Dosis auf nahezu 2 g Guanylharnstoff (in Form von Sulfat) erhöht, so trat nach 32 Minuten der Tod unter Krämpfen ein, es ist aber nicht gesagt, ob das neutrale oder das saure Sulfat verwendet wurde.[2]) Im letzteren Falle könnte die stark saure Reaktion zur Schädigung mit beigetragen haben, da diese eine Blutzersetzung bewirken muß. Mit Rücksicht auf diesen Umstand führten wir die Stoffe nur durch das Maul zu.

[1]) Löw, Chem.-Zeitg. 1908, 676.
[2]) Haag, Annal. d. Chem. 122, 22, 1862.

Als Versuchstiere dienten uns ein mittelgroßer Hund, 13 kg schwer, und Meerschweinchen. Der Hund erhielt mittels Schlundsonde in Wasser verteiltes Dicyandiamid; es wurden in fünf aufeinander folgenden Tagen im ganzen 5 g Dicyandiamid für 1 kg Körpergewicht gegeben. Irgend eine schädliche Wirkung trat nicht ein. Der Harn gab keine Biuretreaktion.

2 Meerschweinchen, je 620 g schwer, erhielten auf 1 kg Körpergewicht 2 g Dicyandiamid in Form von Dextrinpillen. Nach 3 Tagen verendete das eine, nach 5 Tagen das andere Tier. Zwei andere Meerschweinchen erhielten je 1 g Dicyandiamid für 1 kg Körpergewicht. Die Tiere wurden krank, erholten sich aber nach wenigen Tagen.

Zu weiteren Versuchen diente neutrales Guanylharnstoffchlorhydrat:



Ein Hund, 12 kg schwer, erhielt mit Schlundsonde im Laufe von 5 Tagen für je 1 kg Körpergewicht im ganzen 4,5 g der Substanz, ohne daß schädliche Wirkungen eintraten. Da die Substanz sehr schlecht schmeckt, wurde der Hund sofort nach der Eingabe mit Fleisch gefüttert. Andernfalls trat Erbrechen ein.

6 Meerschweinchen, durchschnittlich 600 g schwer, erhielten im Laufe von 3 Tagen je 3,5 g Guanylharnstoffchlorhydrat für je 1 kg Körpergewicht. Die Substanz wurde in Form von Dextrinpillen per os gegeben. Von den Tieren starben zwei nach 4 Tagen, eins nach 5, zwei nach 6 und das letzte nach 11 Tagen.

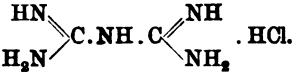
Es liegt also eine verschiedene Wirkung beim Hund und beim Meerschweinchen vor. Die Sektion der Meerschweinchen ergab folgendes: Der Mastdarm der Meerschweinchen war mit einer breiigen, in Gärung geratenen Futtermasse angefüllt. Dünndarm und Magen waren durch Gase stark aufgeblasen, der Inhalt des Mastdarms gab keine Biuretreaktion, die bei Vorhandensein von unverändertem Guanylharnstoff hätte eintreten müssen. Durch schwaches Erwärmen entwickelten sich aus dem Inhalt des Mastdarms reichliche Mengen von Ammoniak.

Diese Erscheinungen traten sowohl nach Fütterung von Dicyandiamid wie nach Guanylharnstoff auf, und es läßt sich

annehmen, daß ersteres durch die saure Reaktion des Magens allmählich in Guanylharnstoff umgewandelt wird. Im Darm erfolgt eine Zersetzung unter Bildung von Ammoniak, und zwar um so mehr, je länger der Futterbrei im Darm verweilt. Beim Hund findet eine schnelle Entleerung des Kotes statt, aber nicht bei den Meerschweinchen, bei denen das Ammoniak ätzend auf die Darmschleimhäute einwirkt.

3. Diguanidchlorhydrat, Guanylharnstoff-Sulfosäure und Guanido-Essigsäure.

Die Verbindungen[1]) waren in den verwendeten Dosen unschädlich. Auf je 1 kg Körpergewicht wurde etwas weniger als 1,3 g Stickstoff in Form der verschiedenen Verbindungen gegeben. Ein Hund, 11 kg schwer, erhielt 0,75 g Diguanidchlorhydrad auf 1 kg Körpergewicht.



Die Substanz wurde durch Schlundsonde eingeführt. Bei dem weiteren Versuch ist 1 g Guanylharnstoff-Sulfosäure auf 1 kg Körpergewicht gegeben worden.

4 Meerschweinchen, durchschnittlich 600 g schwer, erhielten auf 1 kg Körpergewicht 1,8 g Guanylharnstoff-Sulfosäure teils auf einmal, teils in 2 Tagen. Sie blieben völlig gesund. Das gleiche Ergebnis lieferte Guanidoessigsäure

nach Gaben von 1,4 g für 1 kg Körpergewicht.

[1]) J. Söll und A. Stutzer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 4532, 1909.

Einfluß des Natrium-Glykocholats auf die Trypsinverdauung.

Von

G. Quagliariello.

(Aus dem physiologischen Institut der K. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 8. März 1910.)

Mit 8 Figuren im Text.

I.

Der Einfluß, den die Galle auf die Trypsinverdauung ausübt, ist das Thema zahlreicher Untersuchungen gewesen; aber es herrscht unter den Resultaten der verschiedenen Autoren, die sich mit der Frage beschäftigt haben, keine Übereinstimmung.

So z. B. sind die so günstigen Wirkungen der Galle, die Bruno hinsichtlich der proteolytischen Tätigkeit des Pankreassaftes gefunden hat, wahrscheinlich, wenigstens zum größten Teil, durch den Umstand zu erklären, daß die Galle, die als faktisch neutral betrachtet werden kann, indem sie den Pankreassaft verdünnt, seine Alkalinität dem optimalen Werte für die tryptische Tätigkeit nähert.

Auf Vernons Untersuchungen folgten die von Gläßner[1]), der an menschlichem Pankreassaft experimentierte und zu der Schlußfolgerung gelangte, daß die Galle keinen Einfluß auf die tryptische Wirkung ausübt. Wohlgemuth[2]) dagegen kam zwei Jahre später zu der entgegengesetzten Schlußfolgerung, nämlich daß die tryptische Kraft des menschlichen Pankreassaftes durch Zusatz von Galle fast verdoppelt, in geringerem Grade durch den Zusatz zum Leberextrakt vermehrt werde. Aber diese beiden Autoren haben den Grad der Alkalinität des Pankreassaftes und

---

[1]) K. Gläßner, Über menschliches Pankreassekret. Zeitschr. f. physiol. Chemie 40, 465, 1904.

[2]) Wohlgemuth, Zur Frage der Aktivierung des tryptischen Ferments im menschlichen Körper. Diese Zeitschr. 2, 264, 1906.

folglich die Veränderungen nicht berücksichtigt, die der Zusatz der Galle bei der Reaktion des Substrats bewirkte.

Fürth und Schütz[1]) haben eine Reihe von Untersuchungen angestellt, bei denen sie Merckesches Trypsin auf Natriumcaseinat in Anwesenheit von mehr oder weniger Galle einwirken ließen. In einigen Fällen fanden sie, daß die Galle die Trypsinverdauung in geringem Grade erhöht, in anderen Fällen war ihre Einwirkung gleich Null. Sie schließen deshalb, daß die Wirkung der Galle auf die Trypsinverdauung inkonstant ist und ohne Zweifel der Wirkung gegenüber nicht in Betracht kommt, die dieselbe Galle auf das Steapsin ausübt.

Nun scheint mir aber, daß die Resultate der erwähnten Autoren mehr in der Form als im wesentlichen miteinander im Widerspruch stehen. Diejenigen, die auf eine begünstigende Wirkung der Galle oder ihrer Bestandteile geschlossen haben, zogen den Grad der Alkalinität des Verdauungsmittels nicht in Erwägung; diejenigen aber, die diese Wirkung in Abrede gestellt haben, experimentierten unter Bedingungen, welche die Reaktion des Verdauungsmittels bei Zusatz von Galle nicht so weit als möglich modifizierten.

Niemand leugnet aber, daß die Galle die Trypsinverdauung der Eiweißstoffe begünstigen kann, indem sie infolge ihres schwachen Alkaligehaltes und ihres Vermögens, freie Säuren zu fixieren, dazu beiträgt, im Verdauungsmittel den Grad von Alkalinität herzustellen, der dem Trypsin am besten gestattet, seine Wirkung zu entfalten. Das Problem beschränkt sich also auf die Frage, zu entscheiden, ob die Galle außer diesem Vermögen der möglichen Änderung der Reaktion des Mittels, in dem die Verdauung vor sich geht, auch noch aktivierende Wirkungen auf die Trypsinverdauung ausübt.

Nachdem das Problem so gestellt ist, drängt sich natürlich die Vermutung auf, daß die Galle noch infolge einer anderen ihrer physikalischen Eigenschaften einwirken kann, nämlich infolge des ihr eigenen Vermögens die Oberflächenspannung der Flüssigkeiten zu erniedrigen; mit diesem Vermögen hängt mindestens zu einem sehr großen Teil der Einfluß zusammen, den sie auf die Verdauung der Fette ausübt.

Diesen Punkt aufzuklären erschien mir um so interessanter, weil die früheren Beobachter, die bestrebt waren, die Reaktion

[1]) Fürth und Schütz, Über den Einfluß der Galle auf die fett- und eiweißspaltenden Fermente des Pankreas. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 28, 1907.

des Verdauungssubstrates durch die Galle nicht zu ändern, letztere oder ihre Bestandteile dann nicht zur besseren Konzentration verwendet haben, um die größte Erniedrigung der Oberflächenspannung zu erreichen.

Denn die Erniedrigung der Oberflächenspannung ist nicht proportional der Konzentration der Galle, sondern sie erreicht einen Maximalwert bei einer ziemlich niedrigen Konzentration, jenseits der sie allmählich wieder langsam zunimmt.[1])

II.

Experimentelle Methode.

Die einzige Untersuchungsmethode bei derartigen Studien ist die Methode der Verdauungen in vitro.

Den natürlichen Erzeugnissen (Pankreassaft, Galle) habe ich die im Handel vorkommenden vorgezogen, weil sie den ersteren gegenüber den unbestreitbaren Vorzug besitzen, daß sie für eine ganze Reihe von Experimenten konstant bleiben.

Als Verdauungssubstrat habe ich stets reines Hammarstensches Casein verwendet, das in Natriumhydrat gelöst war, in verschiedener Konzentration, wobei ich aber stets die genauen Verhältnisse beibehielt (1 g Casein auf 5,6 g NaOH, 1[b]), die T. B. Robertson[2]) angegeben hat, damit das ganze Casein sich in der Form von Na-Caseinat vorfindet und kein freies Alkali vorhanden ist.

Andrerseits verwendete ich reines Merckschen Pankreatin, das 30 Min. lang in H_2O bei einer Temperatur von 37° C aufgelöst und dann filtriert wurde.

Statt Galle verwendete ich Na-Glykocholat, das in Wasser sehr leicht löslich ist; dies tat ich auch, um die Konzentration genauer bestimmen zu können, da vom Gesichtspunkt der Oberflächenspannung aus nur dem Taurocholat und dem Glykocholat Aktivität zukommen.

Um den Verlauf der Trypsinverdauung zu verfolgen, wollte ich physikalisch-chemische Mittel verwenden, und zwar die schon in einem ähnlichen Falle von Bayliss[3]) verwendete elektrische Leitfähigkeit und die Viscosität. Diese Mittel erschienen mir nämlich als die geeignetsten, um, wenn sie überhaupt vorhanden sind, kleine Schwankungen der Geschwindigkeit der Reaktion deutlich nachzuweisen, die bei einer quanti-

---

[1]) G. Buglia, Hängt die Resorption von der Oberflächenspannung der resorbierten Flüssigkeit ab? Diese Zeitschr. 22, 1909.

[2]) T. B. Robertson, On the Dissociation of the neutral caseinates of sodium and amonium. Journ. of Physical Chem. 7.

[3]) Bayliss, The Kinetics of Tryptic Action. Arch. des sciences biol. 11, Suppl., 261, 1904.

tativen chemischen Abschätzung leicht zu einem Irrtum hätten führen können.

Man versteht leicht, daß die Zunahme der elektrischen Leitfähigkeit bei der Trypsinverdauung, da sie, wie Bayliss[1]) nachgewiesen hat, der Menge der erzeugten Peptone und Aminosäuren proportional ist, die Geschwindigkeit der Verdauung genau ausdrücken muß. Dasselbe gilt für die Verminderung der Viscosität, die an die Spaltung des Gesamtmoleküls des Caseins in immer einfachere Moleküle gebunden ist, wie die der Peptone und der Aminosäuren.

Zu den Untersuchungen bezüglich der Viscosität bediente ich mich des Ostwaldschen Viscometers, wobei ich nur die Ausflußzeit berücksichtigte; zu den Untersuchungen der Leitfähigkeit diente mir der Kohlrauschsche Apparat.

Die viscosimetrische Methode erwies sich als äußerst zweckdienlich, und die Kurven, welche die vermittels dieser Methode erhaltenen Werte verzeichnen, lassen sich alle wohl miteinander vergleichen. Was aber die Methode bezüglich der elektrischen Leitfähigkeit betrifft, so ist ein sehr wichtiger Umstand zu berücksichtigen:

Bei meinen Experimenten verfuhr ich auf folgende Weise: In zwei Leitfähigkeitsgefäße von bekannter Kapazität brachte ich 5 ccm der auf die oben beschriebene Weise bereiteten Caseinlösung, wartete, bis die Flüssigkeiten in dem Gefäße sich mit dem Wasser der sie enthaltenden Thermostaten (37° C) in thermisches Gleichgewicht gesetzt hatten, und führte dann die erste Bestimmung der Leitfähigkeit aus. Hierauf setzte ich in einem der Gefäße das Glykocholat in der gewünschten Konzentration hinzu und wiederholte nach 5 Minuten die Bestimmung von K. Natürlich fand ich, daß dieser Wert infolge des Zusatzes des Salzes merklich erhöht war.

Sodann brachte ich das Pankreatin in eines der beiden Gefäße und bestimmte sofort die Leitfähigkeit. Bei allen meinen Experimenten bewirkte der Zusatz von Pankreatin konstant eine sehr merkliche Verminderung der elektrischen Leitfähigkeit der Caseinlösung. Diese Verminderung, die auch in Anwesenheit des Gallensalzes eintrat, war übrigens eine so augenblickliche, daß von zwei nacheinander gemachten Bestimmungen sofort nach Zusatz des Pankreatins die zweite mir einen viel höheren Wert von K ergab als die erste.

---

[1]) Bayliss, Researches on the Nature of Enzime Action. I. On the Causes of the Rise in electrical Conductity under the Action of Trypsin. Journ. of Physiol. 36, 221 bis 252, 1907.

Ein Beispiel wird die Erscheinung am besten erklären:

5 ccm 5% Casein $K_{37°C} = 210 \times 10^{-5}$	5 ccm 5% Casein $K_{37°C} = 206 \times 10^{-5}$
+0,1 5% Glyc. „ $= 225 \times 10^{-5}$	
+0,1 2% Pankr. „ $= 206$ bis 215×10^{-5}	+0,1 2% Pankr. „ $= 192$ bis 197×10^{-5}

Man beachte, daß die beiden Bestimmungen der Leitfähigkeit nach Zusatz des Pankreatins ohne irgend eine Pause aufeinander folgten, und daß zwischen dem Zusatz des Ferments und den Bestimmungen nur die Zeit verging, die nötig war, um das Gefäß wieder in den Circuit einzuschalten. Welchem Umstand diese Erscheinung zuzuschreiben ist, läßt sich nicht leicht sagen.

Das auffallende ist, daß Bayliss, der unter denselben Bedingungen wie ich experimentierte, niemals mit dem Casein etwas Ähnliches beobachtet hat, wohl aber mit Gelatine, wenn das Ferment vorher erhitzt worden war.[1]) Bei der Gelatine war jedoch die durch Zusatz des Ferments verursachte Erniedrigung der Leitfähigkeit ziemlich gering, so daß sie eine bestimmte Zeit hindurch mit aufeinander folgenden Bestimmungen des Wertes von K verfolgt und in eine Kurve gebracht werden konnte. Auf diese Weise war man sicher, die Stelle der geringeren Leitfähigkeit zu treffen, was unerläßlich ist, wenn man die Geschwindigkeitskurve der Verdauung aufzeichnen will.

Von jeder theoretischen Frage muß man vorläufig absehen — in meinem Falle war eine Erklärung unmöglich, da es in Anbetracht der großen Schnelligkeit, mit der die beiden Erscheinungen (Verminderung der Leitfähigkeit durch Zusatz des Ferments und Zunahme derselben infolge der hydrolytischen Einwirkung) aufeinander folgen, nicht möglich ist, eine Gewißheit zu haben, daß man den minimalsten Wert der Leitfähigkeit trifft. Dies geht so weit, daß ich bei allen meinen Untersuchungen, obwohl alle experimentellen Bedingungen identisch waren, nie zwei gleiche Resultate habe erhalten können.

Aus diesen Gründen entsprach bei meinen Experimenten die Methode der elektrischen Leitfähigkeit keineswegs meinen Erwartungen, und die bezüglich der Werte der Leitfähigkeit entworfenen Kurven sind alle durch den Fehler hinsichtlich des Anfangswertes beeinträchtigt. Ich unterlasse es deshalb, sie hier wiederzugeben, indem ich mir übrigens vorbehalte, bald zu diesem Thema zurückzukommen; schon jetzt aber kann ich sagen, daß sie sich im wesentlichen durch nichts von den Viscositätskurven unterscheiden.

III.

Die chemischen und physikalisch-chemischen Eigenschaften des Natrium-Caseinats übergehe ich, da sie von jedem Gesichts-

[1]) Bayliss, The Kinetics of Tryptic Action. Arch. d. sc. biol. 11, Suppl., 270, 1904.

punkte aus von T. B. Robertson[1]) vollständig erforscht worden sind. Nur möchte ich, ehe ich zum Studium der Wirkung des Natrium-Glykocholats übergehe, einige mit der viscosimetrischen Methode erhaltenen Kurven wiedergeben, welche die Geschwindigkeit der hydrolytischen Spaltung des Caseins durch Einwirkung des Pankreatins bei verschiedenen Konzentrationen zum Ausdruck bringen.

1. Experiment.

In 2 Viscosimeter von einer Kapazität von 5 ccm werden 5 ccm 10%iges Casein gebracht. Ich bestimme die Ausflußzeit bei 37° C. — Im Viscosimeter I setze ich 0,2 ccm H_2O zu und im Viscosimeter II dieselbe Menge einer 2%igen Pankreatinlösung[2]) zu.

Jede $^1/_2$ Stunde wird die Ausflußzeit bestimmt. Die erhaltenen Werte werden in der folgenden Tabelle (I) verzeichnet und in Fig. 1 in eine graphische Linie gebracht, in der ich auf der Abszissenachse die Dauer der Reaktion in Stunden, auf der Ordinatenachse die Ausflußzeit in Sekunden aufzeichne.

Aus der Tabelle und aus der Figur ergibt sich ganz klar, daß die Viscosität der Caseinlösung spontan abnimmt; diese Abnahme ist an die schon von T. B. Robertson[3]) beobachtete Autohydrolyse des Caseins gebunden.

Tabelle I.

Verdauungsdauer in Minuten	Viscosimeter I		Viscosimeter II	
	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausflußzeit in Sekunden	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausflußzeit in Sekunden
	5 ccm Caseinlösung 10%	324″ $^3/_5$	5 ccm Caseinlösung 10%	337″ $^4/_5$
	„ + 0,2 ccm H_2O	304″ $^3/_5$	„ + 0,2 ccm Pankreat. 2%	321″ $^4/_5$
30′		298″ $^1/_5$		277″ $^2/_5$
60′		292″ $^2/_5$		220″
90′		285″ $^3/_5$		174″ $^2/_5$
120′		281″		143″
150′		280″		123″
180′		275″		102″ $^1/_5$
210′		268″ $^2/_5$		85″ $^1/_5$
240′		268″		78″
270′				72″ $^2/_5$

[1]) T. Brailsford Robertson, Studies in the Chemistry of the Jouproteid compounds. Journ. of Biolog. Chem. 2, 317, 1907.

[2]) Die von mir verwendeten Viscosimeter hatten eine Ausflußzeit für destilliertes Wasser bei 37° C und zwar der mit I bezeichnete gleich 26″ und der mit II bezeichnete gleich 27″ $^1/_5$.

[3]) T. Brailsford Robertson, l. c., S. 344.

Dies ist ein Beispiel dafür, daß die Wirkung des Ferments nicht in der Veranlassung einer neuen Reaktion besteht, sondern nur in der Beschleunigung einer schon vorhandenen.

Nach Fig. 1 könnte es jedoch den Anschein haben, als ob die beiden Erscheinungen, spontane Hydrolyse und Hydrolyse unter der Einwirkung des Pankreatins, nicht demselben Gesetze folgen; denn während die Geschwindigkeit der ersteren eine lineäre Zeitfunktion zu sein scheint, ist dagegen die Geschwindigkeit der letzteren eine kompliziertere Zeitfunktion.

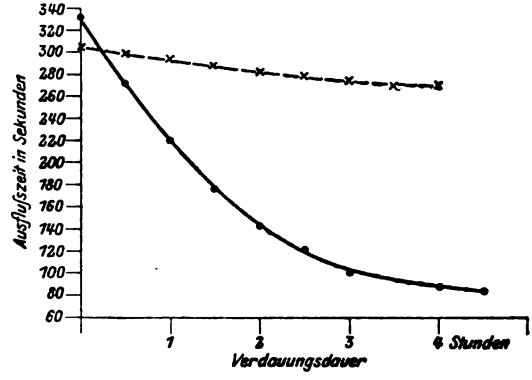


Fig. 1.

Dieser Unterschied existiert jedoch in Wirklichkeit nicht, da die Proportionalität zwischen der Zeit und der bei der Autohydrolyse gespalteten Caseinmenge nur eine scheinbare ist, die zum großen Teil von meinen experimentellen Fehlern abhängt.

Der erste von allen diesen Fehlern bestand darin, daß zwischen der Bereitung der Caseinlösung und dem Beginn der Bestimmung eine gewisse Zeit verstrich, die erforderlich war sowohl zur vollkommenen Lösung des Caseins selbst als auch um zu warten, bis letzteres im Viscosimeter die Temperatur des Bades (37° C) erreicht hatte, in dem es sich befand. Dies ist der Grund, weshalb der erste Viscositätswert, der der reinen Caseinat-Lösung entspricht, ehe die Bildung der Spaltungsprodukte ihren Anfang nahm, in meiner graphischen Darstellung fehlt, die erst mit dem Viscositätswerte beginnt, den die Caseinlösung nach dem Zusatz von Wasser annimmt. Übrigens ist in Anbetracht der Langsamkeit der Reaktion eine 3stündige Beobachtung zu kurz, um ein wahres Bild der Art und Weise geben zu können, wie die Reaktion selbst verläuft. Wird die Beobachtung aber eine genügend lange Zeit hindurch fortgesetzt, wie ich dies mit derselben Caseinlösung getan habe, indem ich sie 6 Tage lang unter Toluol hielt, um die Fäulnis zu verhindern (Fig. 2), so zeigt sich deutlich, daß die Art des Verlaufes der Autohydrolyse sich in keiner Hinsicht von der Hydrolyse infolge Einwirkung der Fermente, ausgenommen hinsichtlich der Geschwindigkeit, unterscheidet.

2. Experiment.

5 ccm Natriumcaseinat werden in 2 Viscosimeter gebracht und bis zu einer Temperatur von 37° C erwärmt. Es wird die Ausflußzeit bestimmt und dann einem jeden 0,1 ccm 1% resp. 2% Pankreatin hinzugesetzt, so daß es eine Konzentration von ca. 0,02 und 0,04% hat. In Tabelle II sind die Werte der Ausflußzeit nach verschiedenen Zeitintervallen verzeichnet.

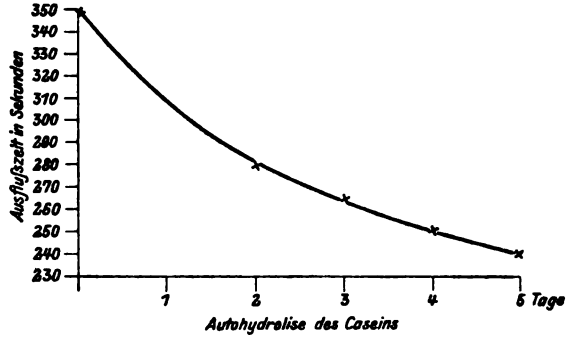


Fig. 2.

3. Experiment.

Gleich dem vorigen, nur ist die Konzentration des zugesetzten Pankreatins 2,5 und 5%, so daß seine Konzentration in der Flüssigkeit gleich ca. 0,05 und 0,1% ist.

Tabelle II.

Verdauungsdauer in Minuten	Viscosimeter I		Viscosimeter II	
	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausflußzeit in Sekunden	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausflußzeit in Sekunden
	5 ccm Caseinlösung 5%	56″ 3/5	5 ccm Caseinlösung 5%	60″
	„ + 0,1 ccm Pankreat. 2%	—	„ + 0,1 ccm Pankreat. 1%	—
30′		51″		56″
60′		48″		53″ 3/5
90′		45″ 1/5		51″ 4/5
120′		—		—
150′		42″		49″ 1/5
180′		—		—
210′		40″		46″ 4/5
240′		39″		46″
270′		38″ 1/5		45″ 3/5
300′		38″		44″ 1/5
330′		—		—
360′		37″		43″
390′		36″ 3/5		43″
420′		—		—
450′		35″ 1/5		42″

Die Werte der Ausflußzeit sind in Tabelle III verzeichnet.

In Fig. 3 sind die Werte des 2. und 3. Experimentes graphisch dargestellt; auf der Abszissenachse ist die Dauer der Verdauung in Stunden eingetragen, auf der Ordinatenachse stehen die Ausflußzeiten in Fünftelsekunden. Die Kurven I, II, III und IV repräsentieren die Konzentrationen 0,02 resp. 0,04, 0,05 und 0,1% des Pankreatins.

Tabelle III.

Verdauungsdauer in Minuten	Viscosimeter I		Viscosimeter II	
	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausflußzeit in Sekunden	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausflußzeit in Sekunden
	5 ccm Caseinlösung 5%	56″	5 ccm Caseinlösung 5%	58″
	„ + 0,1 ccm Pankreat. 2,5%	—	„ + 0,1 ccm Pankreat. 5%	—
30′		49″ 2/5		47″
60′		46″		43″ 1/5
90′		42″ 2/5		40″ 1/5
120′		40″ 2/5		38″ 1/5
150′		38″ 2/5		37″
180′		—		—
210′		37″		34″ 4/5
240′		36″ 2/5		34″ 1/5
270′		35″ 1/5		34″
300′		34″ 3/5		33″ 4/5
330′		34″ 1/5		33″ 1/5
360′		34″		33″
390′		34″		33″

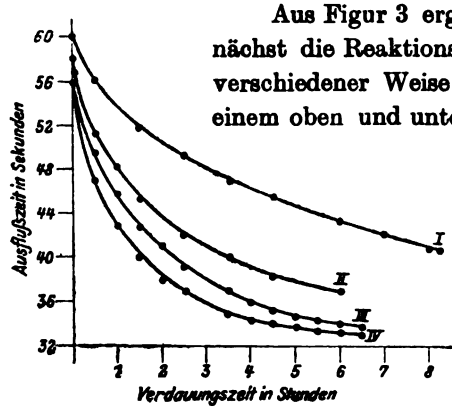


Fig. 3.

Aus Figur 3 ergibt sich deutlich, daß zunächst die Reaktionsgeschwindigkeiten in sehr verschiedener Weise verlaufen; die vier von einem oben und unten identischen Punkte ausgehenden Linien gehen fächerförmig auseinander, nähern sich aber dann allmählich einander und zeigen die Tendenz einander parallel zu laufen. Dies will sagen, daß nach einer gewissen Zeit die Re-

aktionsgeschwindigkeit in allen 4 Fällen, unabhängig von der Menge des anwesenden Ferments, denselben Wert erreicht.

Dieser Umstand findet meines Erachtens seine Erklärung in dem Mechanismus der Wirkung des Enzyms. Wenn es wahr ist, daß das Enzym einwirkt, indem es Zwischenverbindungen mit den Molekülen des Substrats eingeht, welche die wahren aktiven Kombinationen sein sollen, und die sich späterhin zersetzen würden, indem sie die Diastase wiederherstellen, so kann der Verlauf der Kurven nicht anders sein als er sich hier zeigt. In unserem Falle müssen wir nämlich 2 Perioden unterscheiden. In einer ersten hängt die Zahl der aktiven Verbindungen, da viel Casein zugegen ist, von der Menge des anwesenden Ferments ab; in einer zweiten dagegen, wenn ein großer Teil des Substrats verdaut worden ist, hängt die Zahl der aktiven Verbindungen vor allem von der Zahl der Moleküle des Substrats ab, da das Ferment auch dort, wo weniger davon vorhanden ist, genügt, um alle Verbindungen einzugehen.

Dazu kommt, daß im Falle des Caseins nicht nur das Substrat allmählich abnimmt in dem Maße, wie die Verdauung fortschreitet, sondern auch das Ferment, das durch die Spaltungsprodukte fixiert und so von seinem Wirkungskreis entfernt wird. Da nun die Menge dieser Produkte nach einer bestimmten Zeit der Geschwindigkeit, mit der die Verdauung bis dahin vor sich ging, proportinal ist, oder mit anderen Worten der Menge des anwesenden Ferments, so wird bei schnelleren Verdauungen mehr Enzym inaktiv gemacht werden. Dies muß ohne Zweifel dazu beitragen, daß nach einer gewissen Zeit jede Verdauung eine und dieselbe Norm der Geschwindigkeit erlangt, unabhängig von der Menge des bei Beginn des Experimentes zugesetzten Ferments. Dies gilt natürlich innerhalb gewisser Grenzen der Konzentration des Ferments; denn wenn letzteres so spärlich vorhanden ist, daß es, wie sehr auch das Substrat abnimmt, nie in der Lage ist, außer der Sättigung der Spaltungsprodukte mit den Molekülen des rückständigen Substrates die größte Zahl von aktiven Verbindungen einzugehen, so wird notwendigerweise die Verdauungsgeschwindigkeit stets an die Konzentration des Enzyms gebunden sein.

Experimente mit Glykocholat.

Ehe ich den Einfluß des Na-Glykocholats auf die Geschwindigkeit der Verdauung des Caseins studierte, hielt ich es von meinem Gesichtspunkte aus für nötig, mich zu vergewissern, ob es die Fähigkeit besitze, die Oberflächenspannung

des Caseins zu erniedrigen, das, wie übrigens alle Eiweißstoffe, schon eine sehr niedrige Oberflächenspannung hat — auch um im bejahenden Falle zu erkennen, in welcher Konzentration seine Wirkung größer wäre.

Die von mir verwendete Methode war die stalagmometrische.

Mein Apparat gab für dest. Wasser eine Tropfenzahl = $33\,^1/_2$.

Die folgende Tabelle IV zeigt die Werte (Zahl der Tropfen) der Oberflächenspannung des Caseins und des H_2O nach Zusatz einer 5%igen Lösung von Na-Glykocholat. Diese Werte habe ich in Fig. 4 graphisch dargestellt, indem ich auf der Abszissenachse den Prozentgehalt der Konzentration des Glykocholats und auf der Ordinatenachse die Zahl der Tropfen verzeichnete.

Tabelle IV.

						Tropfenzahl
5 ccm	H_2O					33,5
5 „	„	+ 0,2 ccm	Natriumglykocholat	5%	= 0,19%	56
5 „	„	+ 0,3 „	„	„	0,28 „	61
5 „	„	+ 0,4 „	„	„	0,37 „	62
5 „	„	+ 0,5 „	„	„	0,45 „	61,5
5 „	„	+ 1 „	„	„	0,83 „	57,5
5 „	„	+ 2 „	„	„	1,43 „	56
5 „	„	+ 3 „	„	„	1,87 „	55,5
5 „	„	+ 4 „	„	„	2,22 „	„
5 „	„	+ 5 „	„	„	2,5 „	„
5 ccm	Caseinlösung	5%				44,5
5 „	„	„	+ 0,2 ccm	Natriumglykocholat		53
5 „	„	„	+ 0,3 „	„		54
5 „	„	„	+ 0,4 „	„		55,5
5 „	„	„	+ 0,5 „	„		55,5
5 „	„	„	+ 1 „	„		57,5
5 „	„	„	+ 2 „	„		57,5
5 „	„	„	+ 3 „	„		58
5 „	„	„	+ 4 „	„		„
5 „	„	„	+ 5 „	„		„

Aus der Tabelle IV und aus der folgenden Figur 4 ergibt sich deutlich, daß das Na-Glykocholat die Oberflächenspannung des Caseins erniedrigt, aber im Vergleich zu seiner Einwirkung auf H_2O nur in geringem Grade. Wichtiger aber ist, daß, während hinsichtlich der Erniedrigung der Oberflächenspannung des Wassers, wie übrigens bei so vielen anderen Substanzen,[1])

[1]) G. Buglia, l. c.

ein Optimum der Konzentration des Gallensalzes vorhanden ist, jenseits dessen die Spannung wieder zunimmt, hinsichtlich des Caseins diese zweite Phase vollständig fehlt; ist eine gewisse Konzentration überschritten, so bringt das Salz keine Wirkung mehr hervor. Dies enthebt uns übrigens durchaus nicht der Notwendigkeit, auf die ich schon hindeutete, die Gallensalze in geringer Konzentration zu verwenden; denn wenn es wahr ist, daß auch bei hohen Konzentrationen die Erniedrigung der Spannung sehr groß ist, so muß man auch annehmen, daß es in diesem Falle mehr als wahrscheinlich ist, daß die chemische Wirkung (namentlich die Alkalinität) die Oberhand über die physikalische Wirkung gewinnt.

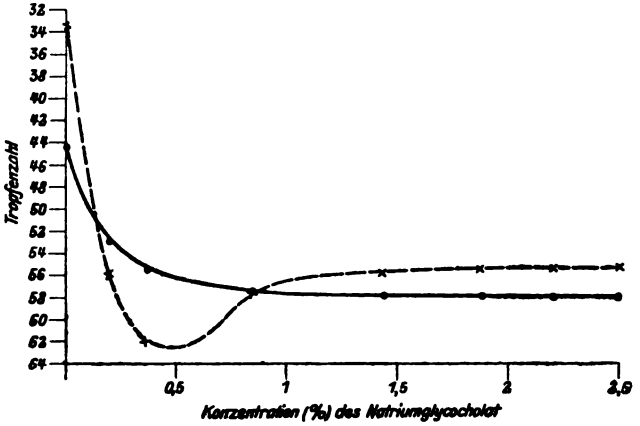


Fig. 4.

Auch hielt ich es für nützlich, die Wirkungen des Zusatzes des Pankreatins auf die Oberflächenspannung des Caseins kennen zu lernen, sowie die Veränderungen der Oberflächenspannung während der Verdauung; ich fand, daß das Pankreatin die Oberflächenspannung des Caseins nicht verändert, und daß letzteres während der Verdauung, wenigstens in den ersten Stunden, seine Oberflächenspannung nicht ändert.

Eine andere von mir beobachtete Tatsache, die man beachten muß, wenn man einige Anomalien in den die Verdauungsgeschwindigkeit des Caseins in Anwesenheit des Na-Glykocholats ausdrückenden Kurven erklären will, ist der Einfluß, den dieses Salz auf die Viscosität der Lösung von Na-Caseinat ausübt.

Hier mögen einige diesbezügliche Daten folgen, die sich aus meinen Experimenten ergeben:

I. 5 ccm einer 10%igen Caseinlösung t' 37° C = 268″ 4/5
+ 0,1 ccm Na-Glykocholat (20%) = 0,4% „ 320″ prozentuale Zunahme v. t' = 19″
nach 30' . . . . . 315″ 2/5
„ 60' . . . . . 313″ 2/5

II. 5 ccm einer 10%igen Caseinlösung t' 37° C = 268″ 3/5
+ 0,1 ccm Na-Glykocholat (10%) = 0,2% „ 309″ 4/5 prozentuale Zunahme v. t' = 8″

III. 5 ccm einer 10%igen Caseinlösung t' 37° C = 250″
+ 0,1 ccm Na-Glykocholat (5%) = 0,1% „ 252″ 3/5 prozentuale Zunahme v. t' = 1″
nach 10' . . . . . 251″
„ 60' . . . . . 249″

IV. 5 ccm einer 5%igen Caseinlösung t' 37° C = 53″ 3/5
+ 0,1 ccm Na-Glykocholat (5%) = 0,1% „ 54″ 1/5 prozentuale Zunahme v. t' = 1,1″

Aus diesen Daten geht klar hervor, daß das Na-Glykocholat die Viscosität der Caseinlösung erhöht. Die Intensität dieser Wirkung hängt fast ausschließlich von der Konzentration ab, in der das Glykocholat einwirkt.

Die prozentuale Zunahme der Ausflußzeit, die das Glykocholat in einer Konzentration von ca. 0,4, 0,2 und 0,1% bei der 10%igen Caseinlösung verursacht, ist nämlich gleich 19, resp. 8 und 1, während die durch das Glykocholat in einer Konzentration von 0,1% bei 2 Caseinlösungen, einer 5% und einer 10%, bewirkte Zunahme gleich 1,1 resp. 1 ist.

Ferner folgt auf die plötzliche und rasche Erhöhung der Viscosität des Caseins infolge Zusatzes des Gallensalzes sofort eine leichte Erniedrigung (I und III), die offenbar an die Autohydrolyse des Caseins gebunden ist. Ob letztere dann in Anwesenheit des Glykocholats mit größerer Langsamkeit vor sich geht als unter normalen Verhältnissen, ist mir nicht gelungen nachzuweisen; es ist aber sehr wahrscheinlich, daß dies der Fall ist, und daß nur die außerordentliche Langsamkeit der Reaktion schon allein imstande ist, es zu verdecken.

Nachdem ich dies vorausgeschickt habe, berichte ich über die Resultate meiner Experimente bezüglich der Verdauung in Anwesenheit des Na-Glykocholats (siehe Tabellen und graphische Darstellungen V, VI, VII und VIII).

Tabelle V.

Verdauungsdauer in Minuten	Viscosimeter I		Viscosimeter II	
	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausfluß-zeit in Sekunden	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausfluß-zeit in Sekunden
	5 ccm Caseinlös. 5%	54″	5 ccm Caseinlös. 5%	57″ 1/5
	„ + 0,1 ccm Natriumglykochol. 5% + 0,1 ccm Pankreat. 2,5%	54″ 4/5	+ 0,1 ccm Pankreat. 2,5%	—
		—		—
30′		49″		51″ 4/5
60′		45″ 2/5		48″
90′		43″ 2/5		45″ 4/5
120′		41″ 1/5		43″ 4/5
150′		40″ 1/5		42″ 3/5
180′		38″ 4/5		41″ 2/5
210′		37″ 2/5		—
240′		37″		39″ 4/5
270′		—		38″ 3/5
300′		—		38″
330′		35″ 4/5		37″ 4/5
360′		35″		37″
390′		34″ 3/5		36″ 2/5

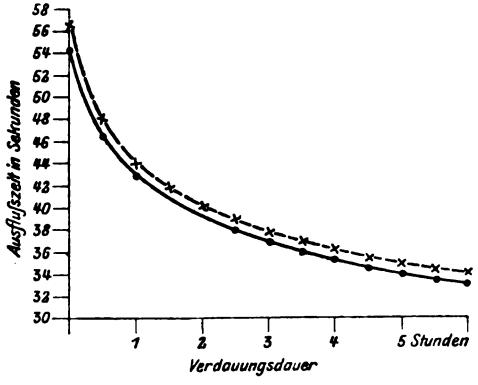


Fig. 5.

Eine Prüfung der vorausgehenden und folgenden Tabellen und graphischen Darstellungen ergibt, daß bei der Wirkung des Na-Glykocholats auf die Geschwindigkeit der Trypsinverdauung des Caseins zwei Faktoren wohl zu beachten sind, nämlich die Konzentration des Glykocholats und die Konzentration des Verdauten.

Tabelle VI.

Verdauungsdauer in Minuten	Viscosimeter I		Viscosimeter II	
	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausfluß-zeit in Sekunden	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausfluß-zeit in Sekunden
	5 ccm Caseinlös. 5 %	53″ 3/5	5 ccm Caseinlös. 5 %	56″ 3/5
	„ + 0,1 ccm Natriumglykochol. 5 % + 0,1 ccm Pankreat. 4 %	54″ 1/5	+ 0,1 ccm Pankreat. 4 %	
		—		
30′		45″ 3/5		48″
60′		42″ 3/5		44″
90′		41″ 3/5		41″ 2/5
120′		40″		41″
150′		38″ 1/5		39″ 2/5
180′		37″		37″ 4/5
210′		35″ 4/5		37″
240′		35″		36″
270′		34″ 4/5		35″ 3/5
300′		34″ 2/5		35″
330′		33″ 2/5		34″ 4/5
360′		33″		34″ 1/5

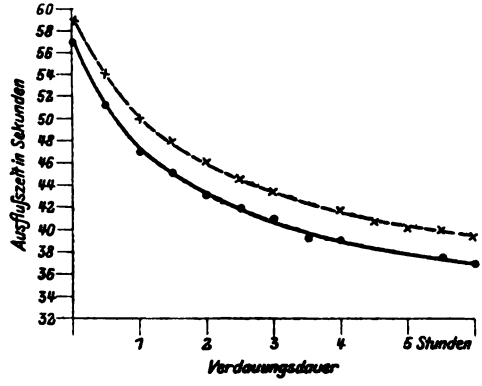


Fig. 6.

Wenn das Glykocholat in geringer Konzentration (0,1 %) auf eine Caseinlösung von mittlerer Konzentration (5 %) einwirkt, so erleidet die Verdauungsgeschwindigkeit keine Veränderung (5. und 6. Experiment); ist dagegen die Konzentration des Caseins ziemlich hoch (10 %), so wird die Verdauung in einer ersten Periode merklich verzögert (7. und 8. Experiment), in einer zweiten Periode beschleunigt. Auf jeden Fall

Tabelle VII.

Verdauungsdauer in Minuten	Viscosimeter I		Viscosimeter II	
	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausfluß-zeit in Sekunden	Zusammensetzung der Flüssigkeit	Ausfluß-zeit in Sekunden
	5 ccm Caseinlös. 10% + 0,2 ccm Pankreat. 1%	276″ 3/5	5 ccm Caseinlös. 10% „ + 0,1 ccm Natriumglykochol. 5% + 0,2 ccm Pankreat. 1%	264″ 267″ 3/5
30′		203″		253″ 1/5
60′		177″ 1/5		241″ 1/5
90′		157″ 1/5		228″ 3/5
120′		141″		227″ 1/5
150′		128″ 3/5		188″ 2/5
180′		118″		152″ 1/5
210′		111″ 1/5		122″ 2/5
240′		104″ 1/5		113″ 2/5
270′		99″ 2/5		105″
300′		93″ 3/5		97″
330′		89″ 2/5		92″

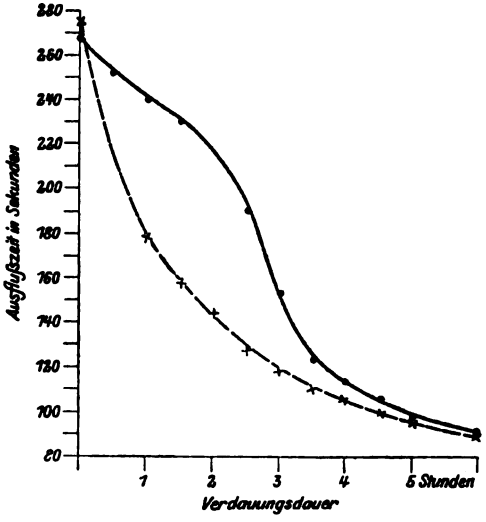


Fig. 7.

ist nach einer gewissen Zeit (die Reaktion darf jedoch noch nicht den Punkt ihres Gleichgewichts erreicht haben) das Endresultat, d. h. die Menge des gespalteten Caseins, bei beiden Proben mit und ohne Glykocholat genau das gleiche.

Tabelle VIII.

Verdauungsdauer in Minuten	Viscosimeter I: Zusammensetzung der Flüssigkeit	Viscosimeter I: Ausflußzeit in Sekunden	Verdauungsdauer in Minuten	Viscosimeter II: Zusammensetzung der Flüssigkeit	Viscosimeter II: Ausflußzeit in Sekunden
	5 ccm Caseinlös. 10% + 0,1 ccm Natriumglykochol. 10% + 0,1 ccm Pankreat. 2%	286″ 3/5		5 ccm Caseinlös. 10% + 0,1 ccm Pankreat. 2%	298″ 4/5
		309″ 4/5	30′		213″ 4/5
45′		234″ 1/5	60′		175″
75′		202″ 2/5	90′		150″
105′		176″	120′		132″
135′		151″	150′		120″
165′		126″ 2/5	180′		110″
195′		116″	210′		101″ 2/5

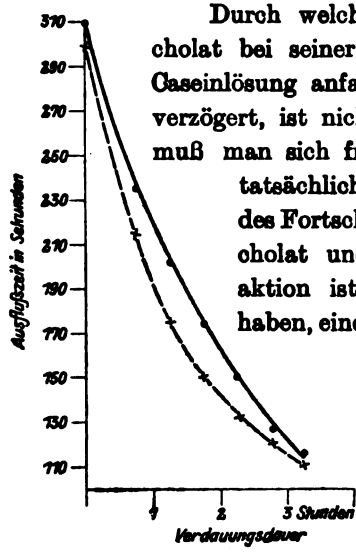


Fig. 8.

Durch welchen Mechanismus das Na-Glykocholat bei seiner Wirkung auf eine konzentrierte Caseinlösung anfangs die Spaltung durch Trypsin verzögert, ist nicht leicht zu erklären. Vor allem muß man sich fragen, ob diese Verzögerung eine tatsächliche oder nicht vielmehr die Wirkung des Fortschritts der anderen zwischen Glykocholat und Casein sich entwickelnden Reaktion ist, die für sich, wie wir gesehen haben, eine Zunahme der Viscosität veranlaßt.

Aber wie kann alsdann die durch das Glykocholat verursachte Verzögerung beim 7. Experiment, bei dem es in der Konzentration von 0,1% einwirkte, größer sein als die beim 8. Experiment verursachte, bei dem es in der Konzentration von 2% einwirkte? Das ist ohne Zweifel auffallend, aber es ist unnütz, eine Erklärung dafür geben zu wollen, wenn es nicht zuerst gelingt zu erklären, durch welchen Mechanismus das Glykocholat die Viscosität des Caseins erhöht. In der Tat könnten wir denken, daß das Glykocholat dort, wo es in größerer Konzentration einwirkt, eine größere Erhöhung der

Viscosität veranlaßt, aber schneller seinen Maximalwert erreicht, während dort, wo es in geringerer Konzentration einwirkt, seine Wirkung nicht nur geringer, sondern auch langsamer ist.

Wenn wir nämlich die Schwankungen der Viscosität des Caseins (in Anwesenheit von mehr oder weniger Trypsin), die auf die durch das Glykocholat verursachten folgen, als die Resultante von zwei Kräften betrachten, von denen die eine, die Hydrolyse des Caseinats, konstant ist (weil im 7. und 8. Experiment weder Substrat noch Ferment verschieden sind) und die Viscosität zu erniedrigen strebt, die andere, die Reaktion zwischen Glykocholat und Casein, veränderlich und sie zu erhöhen strebt, so können wir uns vorstellen, daß diese letztere Kraft nicht nur mit der Konzentration des Glykocholats wächst, sondern auch geschwinder wird, so daß, wenn wir anfangen die Werte der Viscosität aufzuzeichnen, diese letztere Kraft um so kleiner ist, als das Glykocholat konzentrierter war.

Mit anderen Worten, da ja die Geschwindigkeit einer Reaktion mit der Zunahme der Masse der Körper steigt, die reagieren sollen, so erreicht, wenn das Glykocholat sich in größerer Konzentration befindet, die Reaktion zwischen ihm und dem Casein schneller ihren Gleichgewichtspunkt, und sie macht deshalb ihre Wirkungen auf das weitere Fortschreiten der hydrolytischen Reaktion weniger fühlbar.

Einstweilen bestätigt aber noch kein experimentelles Ergebnis diese Anschauungsweise.

Da feststeht, daß das Glykocholat in einer Konzentration von 0,1 und 0,2% die Trypsinverdauung des Na-Caseinats nicht beschleunigt, so wäre mir übrig geblieben, mit höheren Konzentrationen zu experimentieren, bis ich diejenige erreicht hätte, die die größte Erniedrigung der Oberflächenspannung verursacht.

Es ist aber bekannt, daß die Gallensalze hydrolysiert werden und alkalische Reaktion ergeben. Wenn dieser Umstand nun bei so niedrigen Konzentrationen, wie die von 0,1 und 0,2% außer Betracht bleiben kann, so kann dies doch nicht gleichfalls bei höheren Konzentrationen der Fall sein; haben wir doch gesehen, wie groß die Bedeutung der Reaktion der Umgebung für die Geschwindigkeit der Trypsinverdauung ist, und speziell in unserem Falle, bei dem die Kontrollexperi-

mente (Verdauung des Caseins ohne Glykocholat) in faktisch neutraler Umgebung durchgeführt wurden.

Und dieser Übelstand der Alkalinität der Gallensalze ist nicht leicht abzustellen. Denn wenn man versucht, durch Zusatz einer Säure die Reaktion des Verdauungsgemisches wieder auf ihren Neutralitätspunkt zu bringen, so ergibt sich außer anderen Übelständen der sehr schwere, daß sich ein Salz bildet, das, wie Brailsford Robertson nachgewiesen hat, seinerseits auf die Geschwindigkeit der Reaktion einwirken kann.

Andererseits scheint mir, daß, wenn die Oberflächenspannung wirklich von Bedeutung für die Geschwindigkeit der Trypsinverdauung des Caseins wäre, schon bei einer Konzentration von 0,2%, bei der die Erniedrigung der Oberflächenspannung bereits verhältnismäßig wahrnehmbar ist, die Wirkung deutlich hervortreten müßte.

Über die Unwirksamkeit der Galle von diesem Gesichtspunkte aus wundern wir uns nicht, da ja die Oberflächenspannung des Caseins wie im allgemeinen die eines jeden Eiweißstoffes an und für sich schon niedrig ist. So können wir zum Schlusse sagen: unsere Experimente beweisen, daß das Na-Glykocholat in sehr geringer Konzentration keinen bemerkenswerten Einfluß auf die Trypsinverdauung des Na-Caseinats hat.

Einfluß der Gallensalze auf die Pankreasverdauung der Stärke.

Von

G. Buglia.

(Aus dem physiologischen Institut der K. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 16. März 1910.)

Mit 5 Figuren im Text.

Die Untersuchungen Brunos[1]) über das amylolytische Vermögen des Pankreassaftes in Anwesenheit von Galle haben bestätigt; was schon Zuntz[2]) zur Evidenz nachgewiesen hatte, nämlich daß die günstige Einwirkung der Galle auf die Amylase des Pankreas nicht infolge einer besonderen Gärungstätigkeit der Galle selbst erfolgt. Während die Untersuchungen Brunos das Resultat ergaben, daß das Kochen ein ungenügendes Mittel zur vollständigen Aufhebung dieses Einflusses der Galle ist, und daß das digestive Vermögen der letzteren auf die Stärke in Abwesenheit von Pankreassaft so gering ist, daß es gar nicht in Betracht kommt, lieferten die Untersuchungen von Zuntz den Nachweis, daß die Gallensalze eine ähnliche Wirkung haben wie die Galle.

Um den Einfluß der Gallensalze auf die Amylase des Pankreas ausführlicher kennen zu lernen, als sich aus den erwähnten Untersuchungen ergibt, habe ich weitere Experimente gemacht, bei denen ich beabsichtigte, wenn möglich den

---

[1]) G. Bruno, L'excitabilité spécifique de la muqueuse du tube digestif. Arch. d. Sc. Biol. Petersbourg 7, 87, 1899.

[2]) Zuntz und Ussow, Über die Einwirkung der Galle auf Verdauungsvorgänge und über die Herkunft der flüchtigen Fettsäuren in der Butter. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1900, 380.

Mechanismus der Einwirkung, infolge dessen die Gallensalze ihre Tätigkeit entfalten, aufzuklären.

Ich experimentierte mit den Gallensalzen und nicht mit der Galle, weil auf diese Weise die experimentellen Bedingungen vereinfacht waren, und andererseits, wie schon bemerkt, die Resultate der Zuntzschen Untersuchungen zu der Annahme führen, daß die Einwirkung der Galle von der Anwesenheit der Gallensalze in ihr abhänge.

Die von mir befolgten experimentellen Bedingungen waren die nachstehenden:

Gleichen Volumina einer Lösung von Stärkekleister, die in verschiedene Gefäße verteilt waren, setzte ich allmählich wachsende Mengen einer Gallensalz-Lösung hinzu, wobei ich alle Proben der Flüssigkeit bis zu gleichem Volumen mit Wasser versetzte. Einer jeden dieser Proben fügte ich dann genau dieselbe Menge einer wässerigen Pankreatin-Lösung hinzu und unterbrach nach einer bestimmten Zeit die Verdauung durch Zusatz von 25 ccm 97% Äthylalkohol.

Die Dauer der bei Temperatur der Umgebung erfolgenden Verdauung war nicht bei allen Experimenten gleich; jedoch war sie bei einem und demselben Experiment für jede Probeflüssigkeit konstant, da sie vermittels eines die Sekunden zählenden Uhrwerkes genau bestimmt wurde.

Nach der Fehlingschen Methode erforschte ich dann die Menge Zucker, die sich in den einzelnen Proben aus dem Stärkekleister gebildet hatte; dabei befolgte ich die von Bruno[1]) angewandte Technik.

Ferner studierte ich bei einigen anderen Experimenten das verschiedene verdauende Vermögen des Pankreatins der Stärke gegenüber in Anwesenheit oder in Abwesenheit der Gallensalze, indem ich mich ausschließlich der viscosimetrischen Methode (Ostwaldsches Viscosimeter) bediente. Diese schon von vielen anderen Autoren für das Studium der Verdauung von Eiweißstoffen verwendete Methode gestattete mir im einzelnen und eine sehr lange Zeit hindurch die Art und Weise zu verfolgen, wie die Erscheinung vorschritt.

Sowohl für diese viscosimetrischen Untersuchungen als auch für diejenigen, bei denen ich quantitative Bestimmungen des Zuckers ausführte, präparierte ich den Stärkekleister und die Pankreatinlösung auf folgende Weise: ersteren, indem ich jedesmal die im Handel vorkommende Stärke in dest. Wasser im Wasserbad bei Siedetemperatur 15′ lang auflöste; letztere, indem ich jedesmal eine bestimmte Menge Pankreatin (Handelsmarke Kahlbaum) zu einem bestimmten Volum dest. Wassers von der Temperatur 37° C hinzusetzte und die Flüssigkeit nach 30′ filtrierte.

Die so präparierten Flüssigkeiten zeigten jedoch, auch wenn ich dieselbe Menge Pankreatin demselben Volum Wasser hinzusetzte, nicht genau dasselbe verdauende Vermögen, wahrscheinlich weil sich nicht

[1]) l. c.

immer die gleiche Menge Pankreatin auflöste. Dies bildete aber keinen Anlaß zu Irrtümern, weil ich bei demselben Experiment immer die nämliche Pankreatin-Lösung verwendete.[1])

Bekannt ist, daß die Umbildung der Stärke in Maltose vermittels der Amylase des Pankreas im allgemeinen sehr rasch erfolgt, viel schneller als die Verdauung des Caseins unter der Einwirkung des Trypsinfermentes vor sich geht.

Ferner wissen wir, daß auch die Geschwindigkeit der Verdauung der Stärke sozusagen je nach Belieben reguliert werden kann, wenn ein passendes Verhältnis zwischen der Menge des Fermentes und der Menge des zu verdauenden Stoffes hergestellt wird.

Für die von mir anzustellenden Versuche erkannte ich es als notwendig, dieses passende Verhältnis von vornherein herzustellen. Einerseits konnte ich ja auf diese Weise erkennen, nach Ablauf welcher Zeit ich die Verdauung unterbrechen mußte, damit nicht die ganze Stärke verdaut wurde; andererseits verhinderte ich so, daß die Verdauung zu rasch vor sich ging, da in diesem Falle, wie Bruno nachgewiesen hat, die verstärkende Wirkung der Galle auf das amylolytische Vermögen des Fermentes sich in weniger ausgeprägter Weise oder, wie sich aus einigen von meinen Versuchen ergibt, gar nicht mehr zu erkennen gibt.

Deshalb machte ich vor allem einige Experimente, die ich hier anführe, und vermittels derer ich die Menge Zucker bestimmte, die in verschiedenen Zeitabschnitten durch Einwirkung von verschieden konzentrierten Pankreatin-Lösungen auf ein konstantes Volum Stärkekleister gebildet worden waren, sowie die Schwankungen der Ausflußzeit des Stärkekleisters, der ebenfalls der Verdauung verschiedener Mengen Pankreasferment ausgesetzt wurde.

Tabelle I.

Experiment 1.

Zimmertemperatur 23° C.

Probe	Stärkekleister 2% ccm	Pankreatinlösung 2% ccm	Verdauungszeit Min.	Maltose gebildet g
1	10	2	1	0,0799
2	10	2	2	0,0917
3	10	2	5	0,1091
4	10	2	10	0,1107
5	10	2	30	0,1297
6	10	2	60	0,1344

[1]) Ich habe das Pankreatin nicht in alkalischer Lösung aufgelöst, weil ich dabei, obwohl in diesem Falle seine Löslichkeit zunimmt, auch bemerkte — wie ich später ausführen werde —, daß sein amylolytisches Vermögen abnimmt, bis es völlig verschwindet.

Tabelle I (Fortsetzung.)

Probe	Stärkekleister 2% ccm	Pankreatinlösung 2% ccm	Verdauungszeit Min.	Maltose gebildet g
1	10	1	1	0,0363
2	10	1	2	0,0527
3	10	1	5	0,0874
4	10	1	10	0,0822
5	10	1	60	0,1124
1	10	0,5	2	0,0142
2	10	0,5	10	0,0369
3	10	0,5	30	0,0864
4	10	0,5	60	0,1001

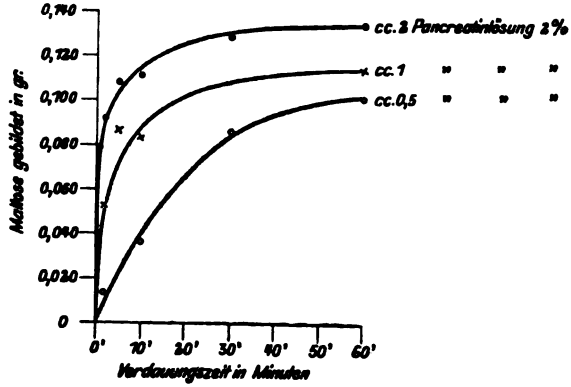


Fig. 1.

Tabelle II.

Experiment 2.

Zimmertemperatur 21° C.

H_2O: Ausflußzeit = 2' 3" 1/5, T. 27,5°;
Stärkekleister 4% (4,0 ccm).

Stunde	Ausflußzeit	Stunde	Ausflußzeit
14,10'	6' 50" 2/5 T. 27,5°	15,33'	3' 22"
14,39'	0,1 ccm 1% Pankreatinlös. zugesetzt	15,45'	3' 19" 1/5
	Ausflußzeit	15,54'	3' 5"
14,48'	6' 24"	16	2' 56" 3/5
14,55'	5' 36"	16,5'	2' 55"
15,1'	4' 54"	16,15'	2' 49" 3/5
15,6'	4' 39" 2/5	17,30'	2' 36"
15,13'	4' 7"	17,50'	2' 30" 3/5
15,19'	3' 58"	17,55'	2' 29" 3/5
15,24'	3' 38" 3/5	18,15'	2' 29"
15,28'	3' 29" 1/5	18,45'	2' 28" 1/5
		19,20'	2' 28" 1/5

Tabelle III.

Experiment 3.

Zimmertemperatur 22° C.

H_2O: Ausflußzeit = 2′ 3″ 1/5. T. 27,5°;

Stärkekleister 4% (4,0 ccm).

Stunde	Ausflußzeit	Stunde	Ausflußzeit
11,15′	13′ 54″ T. 27,5°	11,59′	2′ 53″ 4/5
11,27′	0,1 ccm 1% Pankreatinlös. zugesetzt	12,3′	2′ 41″
		12,7′	2′ 39″
	Ausflußzeit	12,11′	2′ 35″ 4/5
11,38′	8′ 12″ 3/5	12,14′	2′ 33″ 3/5
11,46′	4′ 55″ 4/5	12,18′	2′ 32″
11,51′	3′ 37″ 3/5	12,35′	2′ 31″ 3/5
11,55′	3′ 6″ 1/5	12,40′	2′ 31″ 2/5

Die Resultate dieser Experimente beweisen klar, welche experimentellen Bedingungen für meine Untersuchungen die geeignetsten waren.

Man ersieht nämlich daraus, daß, wenn die Konzentration des Fermentes verhältnismäßig groß ist (2 ccm der 2%igen Pankreatinlösung zugesetzt zu 10 ccm 2%igen Stärkekleisters), schon in sehr kurzer Zeit fast die ganze Stärke verdaut wird; daß dagegen, wenn sie klein ist (0,5 ccm der 2%igen Pankreatinlösung), eine sehr lange Zeit (ca. 1 Stunde) erforderlich ist, damit sich aus derselben Menge Stärke eine Menge Zucker bildet, die gleich derjenigen ist, die sich bei mittlerer Konzentration (1,0 ccm der 2%igen Pankreatinlösung) in einer viel kürzeren Zeit (ca. 15′) bildet.

So ersieht man auch aus den mit der viscosimetrischen Methode erhaltenen Resultaten, daß die Verminderung der Ausflußzeit rascher vorschreitet, wenn die Menge des Fermentes groß ist, als wenn die Konzentration gering ist.

Eine genauere und ins einzelne gehende Prüfung dieser Resultate würde vielleicht zu interessanten Überlegungen von allgemeiner Art bezüglich der Modalität führen, wie diese und ähnliche Verdauungsvorgänge verlaufen; um mich aber nicht zu weit von dem Ziel der vorliegenden Abhandlung zu entfernen, beschränkte ich mich darauf, auf die große Analogie hinzuweisen, die zwischen ihnen und denjenigen besteht, die andere Experimentatoren hinsichtlich der Verdauung des Caseins durch das Pankreasferment erhalten haben. Aus den Untersuchungen Bayliss'[1]) hat sich nämlich ergeben, daß die Ge-

[1]) Bayliss, The Kinetics of Tryptic Action. Arch. d. Sc. Biol. 11, Suppl., 261, 1894.

schwindigkeit der Trypsinverdauung des Caseins weder proportional zur Konzentration des Fermentes noch zur Zeit zunimmt, weil die Erscheinung sich nicht graphisch durch eine einfache logarithmische Kurve darstellen läßt. In ähnlicher Weise beweisen die Diagramme (Fig. 1), die ich erhielt, als ich auf einer Abszisse die Dauer der Verdauung, auf den Ordinaten die Werte verzeichnete, welche die Mengen Zucker betreffen, die durch genau dieselbe Menge eines der Einwirkung des Fermentes in verschiedenen Konzentrationen ausgesetzten Stärkekleisters gebildet werden, daß auch die Verdauung der Stärke durch die Einwirkung des Pankreasfermentes als Zeitfunktion weder nach einer arithmetischen Proportionalität noch nach einer einfachen logarithmischen Proportionalität fortschreitet. Dies legt die Annahme nahe, daß auf die Geschwindigkeit, mit der die Erscheinungen der amylolytischen Verdauung sich entwickeln, einige der Faktoren Einfluß ausüben, die auch die Geschwindigkeit beeinflussen, mit der sich im allgemeinen alle Erscheinungen von künstlicher Verdauung abwickeln: wahrscheinlich die Anwesenheit der Verdauungsprodukte, die nicht allmählich entfernt werden, und die fortschreitende Verminderung des Fermentes, das durch diese Verdauungsprodukte fixiert wird.

Nachdem ich also durch die vorhergehenden Experimente die auf die Schwankungen der Konzentration des Pankreasfermentes folgenden Schwankungen der Verdauungsgeschwindigkeit der Stärke erkannt hatte, begann ich mit den Untersuchungen über den Einfluß, den die Gallensalze bei diesem enzymatischen Vorgang haben, indem ich versuchte, die Intensität ihrer Wirkung festzustellen.

Die Menge der dem Stärkekleister hinzugesetzten Gallensalze (10 ccm einer 2%igen Lösung) variierte von einem Minimum von 0,1 ccm bis zu einem Maximum von 3,0 ccm der 5%igen Lösung. Ich glaubte, es sei von keinem Nutzen, mit größeren Mengen zu experimentieren, da einerseits diese schon diejenigen weit übersteigen, die man unter den physiologischen Bedingungen der Verdauung antrifft, andrerseits auch weil, da die Gallensalze Hydrolyse zeigen, die Neutralität der Verdauungsflüssigkeit zu sehr verändert worden wäre; dies wäre aber, wie ich schon andeutete und wie sich aus Experimenten ergab,

über die ich später berichten werde, der Tätigkeit des Fermentes schädlich gewesen.

Dagegen war bei den nach der viscosimetrischen Methode gemachten Experimenten die Maximalmenge des Gallensalzes viel geringer: 0,1 ccm einer 10%igen Lösung in 4,0 ccm Stärkekleister (4,0 ccm einer 4%igen Lösung).

Die bei diesen Experimenten erhaltenen Resultate habe ich in den hier folgenden Tabellen zusammengestellt; die mit der viscosimetrischen Methode erhaltenen habe ich auch graphisch wiedergegeben, indem ich auf den Ordinaten die Schwankungen der Ausflußzeit und auf den Abszissen die Dauer der Verdauung verzeichnete.

Tabelle IV.

Experiment 4.

Zimmertemperatur 22° C.

Probe	Stärkekleister 2% ccm	Natriumglykocholatlösung 10% ccm	Pankreatinlösung 2% ccm	Verdauungszeit Min.	Maltose gebildet g
a) 1	10	—	2	1	0,0728
2	10	0,1	2	1	0,0714
3	10	0,5	2	1	0,0758
4	10	1,0	2	1	0,0728
b) 1	10	—	1	2	0,0620
2	10	0,1	1	2	0,0612
3	10	0,5	1	2	0,0696
4	10	1,0	1	2	0,0696
c) 1	10	—	0,5	5	0,0375
2	10	0,1	0,5	5	0,0437
3	10	0,5	0,5	5	0,0405
4	10	1,0	0,5	5	0,0400
5	10	1,0	—	5	0
6	10	—	0,5	5	0,0362

Tabelle V.

Experiment 5.

Zimmertemperatur 19° C.

Probe	Stärkekleister 2% ccm	Natriumglykocholatlösung 5% ccm	H_2O ccm	Pankreatinlösung 1% ccm	Verdauungszeit Min.	Maltose gebildet g
d) 1	10	—	5,0	0,5	15	0,0145
2	10	0,2	4,8	0,5	15	0,0166
3	10	0,5	4,5	0,5	15	0,0166
4	10	1,0	4,0	0,5	15	0,0184
5	10	2,0	3,0	0,5	15	0,0179

Tabelle V (Fortsetzung.)

Probe	Stärkekleister 2% ccm	Natriumglykocholatlösung 5% ccm	H_2O ccm	Pankreatinlösung 1% ccm	Verdauungszeit Min.	Maltose gebildet g
e) 1	10	—	5	1	15	0,0256
2	10	0,1	4,9	1	15	0,0338
3	10	0,2	4,8	1	15	0,0372
4	10	0,5	4,5	1	15	0,0378
5	10	1,0	4,0	1	15	0,0409
6	10	2,0	3,0	1	15	0,0359
7	10	5,0	—	—	15	0
		Natriumtaurocholatlösung 5%				
f) 1	10	—	5,0	2	15	0,0469
2	10	0,2	4,8	2	15	0,0714
3	10	0,5	4,5	2	15	0,0825
4	10	1,0	4,0	2	15	0,0854
5	10	2,0	3,0	2	15	0,0773
6	10	3,0	2,0	2	15	0,0825
7	10	3,5	1,5	2	15	0,0816

Tabelle VI.

Experiment 6.

Zimmertemperatur 23° C.

H_2O: Ausflußzeit = 2′ 3″ 1/5; T. 27,5°;

Stärkekleister 4% (4,0 ccm).

Stunde	Ausflußzeit	Stunde	Ausflußzeit
10,40′	5′ 48″ 2/5; T. 27,5°	11,35′	2′ 17″ 2/5
10,51′	0,1 ccm 1% Pankreatinlös. zugesetzt	11,40′	2′ 16″ 4/5
		11,45′	2′ 16″ 1/5
	Ausflußzeit	11,50′	2′ 15″ 3/5
10,56′	4′ 20″	11,55′	2′ 15″
11,1′	3′ 21″ 2/5	12	2′ 14″ 2/5
11,5′	2′ 45″ 2/5	12,5′	2′ 14″
11,8′	2′ 33″ 2/5	12,10′	2′ 13″ 3/5
11,12′	2′ 27″	12,15′	2′ 12″ 2/5
11,20′	2′ 20″ 3/5	12,20′	2′ 12″
11,25′	2′ 18″ 4/5	12,25′	2′ 12″
11,30′	2′ 18″	12,30′	2′ 12″

Tabelle VII.

Zimmertemperatur 23° C.

H_2O: Ausflußzeit = 2′ 3″ 1/5; T. 27,5°;

Stärkekleister 4% (4,0 ccm).

Stunde	Ausflußzeit	Stunde	Ausflußzeit
15,7′	5′ 50″ 1/5; T. 27,5°	15,30′	12′ 56″ 1/5
15,15′	0,1 ccm 10% Natriumglykocholatlösung zugesetzt	15,36′	0,1 ccm 1% Pankreatinlösung zugesetzt

Tabelle VII (Fortsetzung).

Stunde	Ausflußzeit	Stunde	Ausflußzeit
15,46′	9′ 4″ $^3/_5$	16,18′	2′ 25″
15,53′	5′ 7″	16,22′	2′ 22″ $^2/_5$
15,57′	3′ 53″	16,24′	2′ 20″ $^4/_5$
16,1′	3′ 15″	16,27′	2′ 18″ $^1/_5$
16,5′	2′ 54″ $^2/_5$	16,31′	2′ 18″
16,8′	2′ 43″ $^1/_5$	16,35′	2′ 16″ $^2/_5$
16,12′	2′ 37″ $^2/_5$	16,38′	2′ 16″ $^1/_5$
16,15′	2′ 29″ $^2/_5$	16,41′	2′ 16″ $^1/_5$

Tabelle VIII.

Experiment 7.

Zimmertemperatur 22° C.

H_2O: Ausflußzeit = 0′ 29″ $^1/_5$; T. 27,5°;
Stärkekleister 4% (5,0 ccm).

Stunde	Ausflußzeit	Stunde	Ausflußzeit
15,25′	5′ 56″; T. 27,5°	16,16′	1′
15,47′	0,1 ccm 1% Pankreatinlös. zugesetzt	16,17′ 30″	0′ 58″
		16,19′	0′ 55″ $^3/_5$
		16,21′	0′ 51″ $^2/_5$
	Ausflußzeit	16,25′	0′ 47″ $^4/_5$
15,50′	4′ 28″	16,30′	0′ 43″ $^2/_5$
15,58′	3′ 4″ $^2/_5$	16,35′	0′ 41″ $^1/_5$
16,1′	2′ 22″ $^3/_5$	16,40′	0′ 39″ $^1/_5$
16,4′	1′ 54″	16,45′	0′ 38″ $^2/_5$
16,6′ 30″	1′ 36″	16,57′	0′ 37″ $^3/_5$
16,8′ 30″	1′ 26″ $^2/_5$	17,5′	0′ 37″ $^1/_5$
16,10′ 30″	1′ 17″	17,11′	0′ 37″
16,12′	1′ 11″ $^2/_5$	17,18′	0′ 37″
16,14′	1′ 5″ $^2/_5$	17,26′	0′ 37″

Tabelle IX.

Zimmertemperatur 22° C.

H_2O: Ausflußzeit = 0′ 29″ $^1/_5$; T. 27,5°;
Stärkekleister 4% (5,0 ccm).

Stunde	Ausflußzeit	Stunde	Ausflußzeit
17,45′	5′ 55″ $^2/_5$; T. 27,5°	18,53′	0′ 58″
18,12′	0,1 ccm 10% Natriumglykocholatlösung zugesetzt	18,55′	0′ 53″
		18,56′ 15″	0′ 50″ $^1/_5$
		18,58′	0′ 47″ $^3/_5$
	Ausflußzeit	18,59′	0′ 45″ $^2/_5$
18,15′	15′ 54″ $^3/_5$	19,2′	0′ 43″
18,28′	0,1 ccm 1% Pankreatinlös. zugesetzt	19,4′	0′ 41″ $^1/_5$
		19,7′	0′ 40″ $^1/_5$
		19,10′	0′ 39″ $^2/_5$
	Ausflußzeit	19,13′	0′ 39″ $^1/_5$
18,43′	13′ 43″	19,18′	0′ 38″ $^4/_5$
18,47′	3′ 27″ $^1/_3$	19,25′	0′ 38″ $^3/_5$
18,50′	1′ 34″	19,26′	0′ 38″ $^3/_5$
18,51′ 30″	1′ 4″		

Die angeführten Resultate beweisen augenfällig die Einwirkung der Gallensalze auf die Tätigkeit des amylolytischen Fermentes.

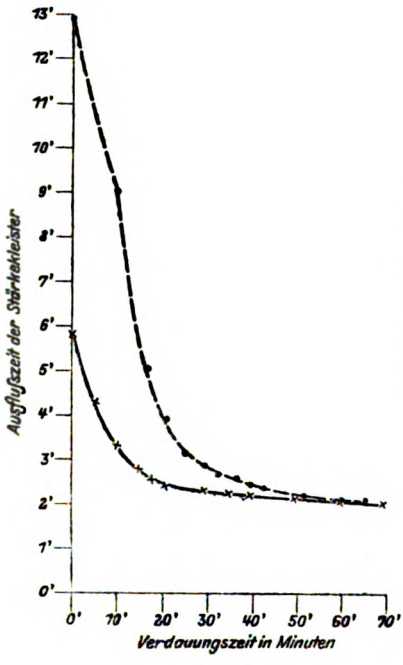


Fig. 2.

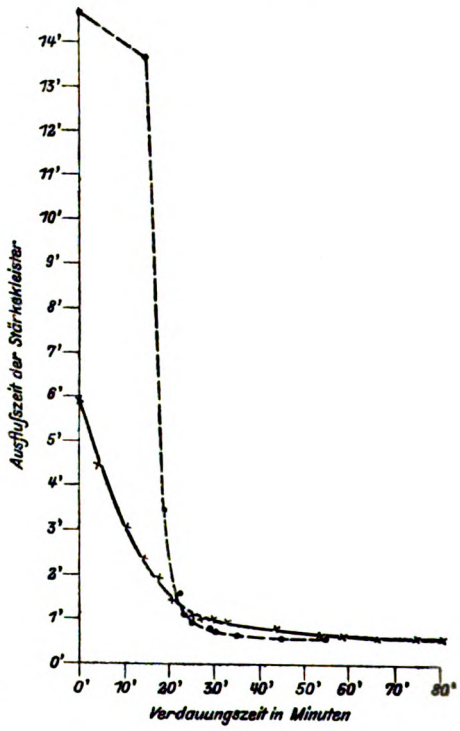


Fig. 3.

Bei jedem Experimente, bei dem ich dem Stärkekleister mehr oder minder große Mengen von Natriumglykocholat oder Natriumtaurocholat zusetzte, ist die Menge des in eben derselben Zeit gebildeten Zuckers größer als die in Abwesenheit des Gallensalzes gebildete.

Eine Ausnahme bilden jedoch die Resultate des 1. und teilweise des 2. Experimentes, bei denen sich kein nachweisbarer Einfluß des Natriumglykocholats auf die Tätigkeit des Verdauungsfermentes ergibt. Der Grund ist wahrscheinlich darin zu suchen, daß ich bei diesen Experimenten eine verhältnismäßig große Menge des Fermentes verwendete und die Verdauung nach einer sehr kurzen Zeit unterbrach. Diese experimentellen Bedingungen würden den Gallensalzen, wie

Bruno für die Galle annimmt, nicht gestatten, ihre verstärkende Tätigkeit zu entwickeln, weil letztere den raschen Fortschritten der verdauenden Tätigkeit des Fermentes nicht folgen kann; so herrscht die dem letzteren eigene Wirkung vor.

Auch die mit der viscosimetrischen Methode erhaltenen Resultate beweisen deutlich den beschleunigenden Einfluß der Gallensalze auf die Tätigkeit des Verdauungsfermentes.

In den (in Fig. 2 und 3) wiedergegebenen Diagrammen zeigt die Kurve, die sich auf den das Gallensalz enthaltenden Stärkekleister bezieht (schraffierte Linie), obwohl sie von einem viel höher gelegenen Punkte ausgeht, ein Maximum der Erniedrigung nach einer gleichen oder auch kürzeren Zeit als das der anderen Kurve (ununterbrochene Linie), welche die Verminderung der Ausflußzeit des Stärkekleisters während der Pankreasverdauung in Abwesenheit des Gallensalzes angibt.

Hier halte ich es jedoch für angezeigt darauf hinzuweisen, daß sich nicht immer bei Anwendung der viscosimetrischen Methode die beschleunigende Wirkung der Gallensalze auf das Pankreasferment leicht zur Evidenz nachweisen läßt. Bei vielen anderen hier nicht angeführten Experimenten, die ich mit größeren Konzentrationen von Gallensalz und mit verschiedenen Mengen Pankreatin machte, war diese Einwirkung kaum oder gar nicht zu konstatieren. Dies hängt von dem Umstande ab, daß das Gallensalz die Viscosität des Stärkekleisters erhöht und daß diese Erhöhung, die auch von Anfang an rasch erfolgt, eine mehr oder minder lange Zeit hindurch fortdauert, bis sie einen Maximalwert erreicht, über den hinaus sie das Streben zeigt, leicht abzunehmen, wie man bei diesem Experiment wahrnehmen kann.

Tabelle X.

Experiment 8.

Zimmertemperatur 22° C. Stärkekleister 3% (4,0 ccm).

Stunde	Ausflußzeit	Stunde	Ausflußzeit
11,4′	13′ 44″ $^2/_5$ T. 28,5°	13,40′	21′ 54″ $^4/_5$
11,10′	0,1 ccm 5% Natrium-glykocholatlös. zugesetzt	14,9′	22′ 20″ $^3/_5$
		14,40′	22′
		15,2′	21′ 31″ $^2/_5$
	Ausflußzeit	15,25′	21′ 34″
11,28′	17′ 39″ $^2/_5$	15,47′	21′ 31″
11,49′	18′ 37″ $^1/_5$	16,10′	21′ 15″
12,10′	19′ 37″ $^2/_5$	17,25′	20′ 13″
12,50′	20′ 56″	18,20′	19′ 43″
13,18′	21′ 9″ $^3/_5$		

Es folgt daraus, daß, wenn das Verdauungsferment dem Stärkekleister sofort nach dem Zusatz des Gallensalzes bei Beginn der Verdauung hinzugesetzt wird, die viscosimetrischen Schwankungen das Ergebnis der Schwankungen (Erhöhung), die von dem Gallensalz abhängen, und der Schwankungen (Abnahme), die von der verdauenden Wirkung des Fermentes abhängen, darstellen.

Auf diese Weise kann die Wirkung der Gallensalze auf die Viscosität des Stärkekleisters in einem ersten Zeitabschnitt die vom Ferment hervorgebrachte Wirkung verdecken oder vermindern und den Glauben erwecken, daß das Gallensalz die Verdauung nicht nur nicht erleichtere, sondern verzögere. Dies ergibt sich in der Tat aus dem 7. Experiment (Tab. IX), über das ich berichtet habe und das Bezug hat auf die Schwankungen der Ausflußzeit des Stärkekleisters während der Pankreasverdauung in Anwesenheit des Gallensalzes.

Wenn wir aber zu den vermittels der chemischen Methode (Bestimmungen der Maltose) erhaltenen Resultaten zurückkehren, so ergibt sich hier wieder zur Evidenz, daß der von den Gallensalzen auf die Amylase des Pankreas ausgeübte günstige Einfluß, obwohl er im allgemeinen mit der Zunahme des Gallensalzes steigt, doch keine der Konzentration der Gallensalze selbst proportionale Zunahme bewirkt.

Es existiert ein Konzentrationsoptimum, jenseits dessen man bei Vermehrung der Menge des Gallensalzes keine stärkere Bildung von Maltose erhält. Dieses Konzentrationsoptimum ergibt sich als ungefähr 0,01 g pro 10 ccm 4%igen Stärkekleisters bei den Experimenten, bei denen ich das Gallensalz in 10%iger Lösung verwendete; bei den Experimenten dagegen, bei denen die Dauer der Verdauung größer war (15′) und wo ich das Gallensalz in 5%iger Lösung verwendete, beträgt sie ungefähr 0,05 g.

Nachdem ich so die Intensität der Einwirkung der Gallensalze auf die Pankreasamylase als Funktion ihrer Konzentration festgestellt hatte, suchte ich den Mechanismus der Einwirkung zu erforschen.

Wirken die Gallensalze durch die einfache Tatsache ihrer Anwesenheit wie die gewöhnlichen Katalysatoren, oder weil sie chemische oder physikalisch-chemische Veränderungen in der der Verdauung ausgesetzten Flüssigkeit veranlassen? Von diesen

drei Hypothesen zog ich die letzte in Erwägung hinsichtlich der Möglichkeit, daß die Gallensalze, indem sie die Oberflächenspannung des Stärkekleisters erniedrigen, seinen Kontakt mit dem Pankreasferment begünstigen. Deshalb führte ich einige Bestimmungen der Oberflächenspannung des Stärkekleisters nach Zusatz von verschiedenen Mengen von Gallensalz aus, wobei ich versuchte, die gefundenen Schwankungen mit der Intensität ihrer günstigen Einwirkung auf die Pankreasverdauung der Stärke in Beziehung zu bringen.

Gleichzeitig führte ich auch Bestimmungen der Viscosität aus und erprobte die Reaktion der Flüssigkeit.

Die mit der stalagmometrischen Methode (Traube) zur Bestimmung der Oberflächenspannung und mit der viscosimetrischen Methode (Ostwald) zur Bestimmung der Ausflußzeit erhaltenen Resultate sind wie die vorhergehenden in Tabellen vereinigt. Diesen folgen ebenso viele Diagramme, in die einige Kurven gezeichnet sind, welche die Schwankungen der oben erwähnten physiko-chemischen Konstanten des Stärkekleisters als Funktion der Konzentration des Gallensalzes darstellen. Damit der Vergleich zwischen der Intensität der Einwirkung und physiko-chemischen Schwankungen leichter und die Unterschiede augenfälliger hervortreten, gebe ich in diesen Diagrammen auch die Kurven wieder, die sich auf die bei einigen der schon besprochenen Experimente (5, d, f) bestimmten Mengen Maltose beziehen, und zwar ebenfalls als Funktion der Konzentration des Gallensalzes.

In jedem Diagramm ist die auf die Schwankungen der Oberflächenspannung bezügliche Kurve durch eine ununterbrochene Linie dargestellt, die auf die Menge des gebildeten Zuckers bezügliche durch eine schraffierte Linie, und endlich die Kurve der viscosimetrischen Schwankungen durch eine punktierte Linie.

Aus den folgenden Tabellen und besser noch aus den beigefügten graphischen Aufzeichnungen ersieht man, daß mit der Zunahme der Menge des Gallensalzes die Oberflächenspannung des Stärkekleisters allmählich immer mehr abnimmt, bis sie ein Maximum der Abnahme entsprechend 0,120 bis 0,125 g pro 15 ccm Stärkekleister erreicht (= 0,8 g Gallensalz pro 100 ccm Stärkekleister), über das hinaus die Oberflächenspannung

Tabelle XI.

Experiment 9.

Zimmertemperatur 19° C.

Probe	Stärkekleister 2% ccm	Natriumglykocholatlösung 5% ccm	H_2O ccm	Reaktion	Ausfluß-zeit	Tropfenzahl
1	10	—	5,0	neutral	3′ 48″ $^3/_5$	43,3
2	10	0,2	4,8	„	5′ 39″	54
3	10	0,5	4,5	„	7′ 28″	59,5
4	10	1,0	4,0	schwach alkalisch	8′ 20″	68,3
5	10	2,0	3,0	„	6′ 57″	81
6	10	3,0	2,0	„	6′	76,5
7	—	10,0	—	„	2′ 15″ $^2/_5$	67,3
8	—	—	10,0		1′ 52″	42,5

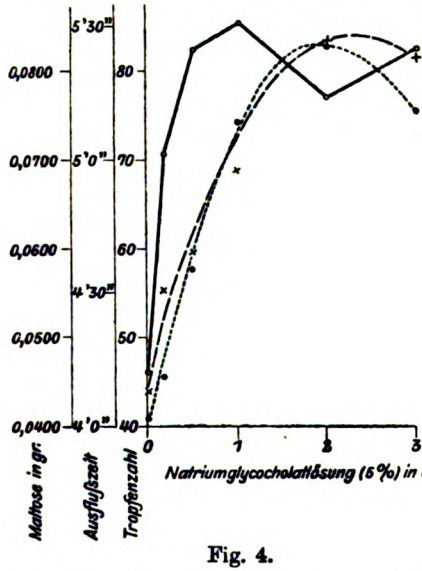


Fig. 4.

eine leichte Tendenz zum Ansteigen zeigt. Dem analog ersieht man aus den Kurven, die die Schwankungen der Menge Zucker wiedergeben, der sich infolge der Einwirkung des Pankreasfermentes auf die Stärke bildet, daß die beschleunigende Wirkung der Gallensalze mit der Konzentration bis zu einer gewissen Grenze allmählich immer mehr zunimmt, jenseits der die Menge des sich bildenden Zuckers nicht mehr zunimmt. Es existiert deshalb kein vollkommener Parallelismus zwischen den beiden Erscheinungen, weil die maximale Erniedrigung der Oberflächenspannung bei einer Konzentration des Gallensalzes eintritt, die größer ist als die, bei der die größte Menge Zucker erhalten wird. Dies würde zu der Annahme führen, daß keine Beziehung zwischen den Erscheinungen der Oberflächenspannung und der Wirkung, welche die Gallensalze auf die Pankreasamylase ausüben, besteht.

Tabelle XII.

Experiment 10.

Zimmertemperatur 20° C.

Probe	Stärkekleister 2% ccm	Natriumtaurocholatlösung 5% ccm	H_2O ccm	Reaktion	Ausflußzeit	Tropfenzahl
1	10	—	5,0	neutral	4′ 2″	43
2	10	0,2	4,8	„	4′ 11″	55,3
3	10	0,5	4,5	„	4′ 36″	59,5
4	10	1,0	4,0	„	5′ 9″	65,8
5	10	2,0	3,0	schwach alkalisch	5′ 26″	83,3
6	10	3,0	2,0	„	5′ 11″	82,3
7	10	4,0	1,0	„	4′ 50″	78,5
8	10	5,0	—	alkalisch	4′ 41″	76,3
9	10	10,0	—	„	2′ 13″	68,3
10	10	—	10,0	„	1′ 52″	42,8

Freilich müssen wir erwägen, daß der Zusatz der Gallensalze zum Stärkekleister zugleich mit den Schwankungen der Oberflächenspannung andere physikalisch-chemische und rein chemische Schwankungen verursacht, von denen wahrscheinlich das Fehlen des vollkommenen Parallelismus zwischen der maximalen Erniedrigung der Oberflächenspannung und der Maximalmenge der erzeugten Maltose abhängen kann.

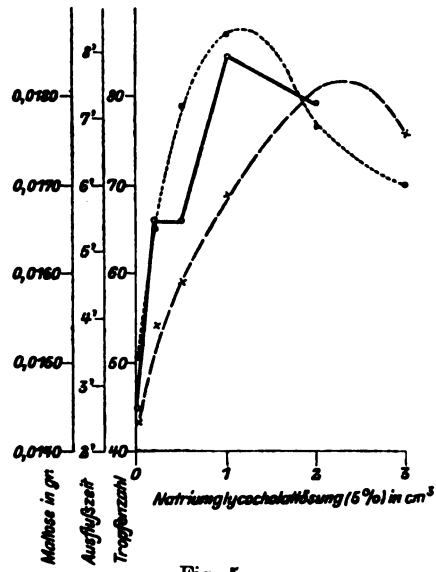


Fig. 5.

In der Tat erfährt, wie aus den mitgeteilten viscosimetrischen Bestimmungen hervorgeht, die Viscosität des Stärkekleisters nach Zusatz des Gallensalzes eine starke Erhöhung. Diese Erhöhung der Viscosität muß notwendigerweise die durch Erniedrigung der Oberflächenspannung veranlaßte Wirkung hindern, insofern als sie die Vermischung des Fermentes und der zu verdauenden Substanz schwieriger gestaltet.

Ferner ersieht man aus den von mir in den Tabellen angeführten experimentellen Resultaten, daß, wenn die dem Stärkekleister zugesetzte Menge der Lösung des Gallensalzes eine gewisse Grenze überschreitet, die ungefähr derjenigen gleich ist, bei der man die größte Zuckerbildung erhält, die Reaktion des Stärkekleisters deutlich alkalisch wird, weil die Gallensalze in wässeriger Lösung Hydrolyse erleiden. Diese alkalische Reaktion der Flüssigkeit erniedrigt aber die Tätigkeit des Fermentes, wie es die Resultate beweisen, die ich erhielt, als ich verschiedenen Proben von Stärkekleister gleiche Volumina einer verschieden konzentrierten Natriumhydratlösung hinzusetzte. Ich führe diese Resultate hier an.

Tabelle XIII.

Zimmertemperatur 20° C.

Probe	Stärkekleister 2% ccm	NaOH-Lösung ccm	H_2O ccm	Pankreatinlösung 2% ccm	Verdauungszeit Min.	Maltose gebildet g
1	10	—	5,0	1	15	0,0895
2	10	5,0 ($^n/_{100}$)	—	1	15	Kleine Menge
3	10	5,0 ($^n/_{50}$)	—	1	15	" "
4	10	5,0 ($^n/_{20}$)	—	1	15	Spur "
5	10	5,0 ($^n/_{10}$)	—	1	15	"

Man ersieht daraus, daß, je größer die Konzentration des Natriumhydrats ist, desto geringer die Tätigkeit des Fermentes ist. Gleichzeitig mit diesen Resultaten fand ich, daß der Zusatz des Natriumhydrats die Viscosität des Stärkekleisters erhöht.

Tabelle XIV.

Zimmertemperatur 20° C.

Probe	Stärkekleister 2% ccm	NaOH-Lösung ccm	H_2O ccm	Ausflußzeit	Tropfenzahl
1	10	—	5,0	4′ 2″	43
2	10	5,0 ($^n/_{100}$)	—	5′ 2″	43,3
3	10	5,0 ($^n/_{50}$)	—	6′ 23″	43,5
4	10	5,0 ($^n/_{20}$)	—	7′ 54″	43,8
5	10	5,0 ($^n/_{10}$)	—	8′ 58″	44,3
6	—	—	10	1′ 42″	42,8

So ist anzunehmen, daß von der Hydrolyse der Gallensalze nicht nur die Abnahme der Tätigkeit des Fermentes

abhängt, sondern auch die beträchtliche Erhöhung der Viscosität, die der Stärkekleister erfährt, wenn ihm die Gallensalze zugesetzt werden. Da die Hydrolyse der Gallensalze in wässeriger Lösung, also im Stärkekleister, die beiden erwähnten Veränderungen (Erhöhung der Viscosität und alkalische Reaktion) hervorruft, so gestattet sie nicht, eine denkbar vollkommene Beziehung zwischen der von den Gallensalzen auf die Pankreasverdauung des Stärkekleisters ausgeübten beschleunigenden Tätigkeit und der Erniedrigung der Oberflächenspannung, die sie gleichzeitig dabei bewirken, zu konstatieren.

Die von mir in dieser Abhandlung besprochenen Resultate führen zu nachstehenden Schlußfolgerungen:

1. Die Menge des infolge Einwirkung des Pankreasfermentes auf eine bestimmte Menge Stärke gebildeten Zuckers ist von der Zeit und von der Menge des Fermentes abhängig, aber, abgesehen von den allerersten Augenblicken, weder der einen noch der anderen dieser beiden veränderlichen Größen proportional. Deshalb sind die die Geschwindigkeit der Reaktion darstellenden Kurven keine geraden Linien. Sie haben jedoch, ähnlich denen der Trypsinverdauung der Eiweißstoffe, keinen einfachen logarithmischen Charakter.

2. Die Gallensalze üben eine günstige Wirkung auf die Tätigkeit des Pankreasferments aus, und diese ihre Wirkung ist unabhängig von der Konzentration des Ferments und von der Dauer der Verdauung.

3. Die günstige Wirkung der Gallensalze auf die Tätigkeit des Pankreasferments läßt sich deutlich nachweisen entweder durch Bestimmung der Maltosemenge vermittels der chemischen Methode oder indem man mittels der viscosimetrischen Methode die Schwankungen der Ausflußzeit verfolgt, die der Stärkekleister unter der Einwirkung des Verdauungsferments zeigt. In diesem zweiten Falle muß man jedoch die Erhöhung der Viscosität berücksichtigen, die der Stärkekleister durch den Zusatz des Gallensalzes erfährt.

4. Es existiert ein Konzentrations„optimum", bei dem das Gallensalz die günstigste Wirkung ausübt. Dieses Konzentrations„optimum" ist stets höher als dasjenige, in dem sich das Gallensalz unter physiologischen Verdauungsbedingungen befinden kann.

5. Die günstige Wirkung, die die Gallensalze auf die Verdauung der Stärke mit Hilfe des Pankreasferments ausüben, ist wahrscheinlich durch den Umstand zu erklären, daß die Gallensalze die Oberflächenspannung des Stärkekleisters erniedrigen.

Es existiert jedoch keine vollkommene Beziehung zwischen der Erniedrigung der Oberflächenspannung und der Erhöhung der Tätigkeit des Ferments (in dem Sinne, daß mit der Zunahme der ersteren auch letztere sich steigert), wahrscheinlich weil die Gallensalze, da sie in wässeriger Lösung alkalische Hydrolyse zeigen, einerseits die Viscosität des Stärkekleisters bedeutend erhöhen und andererseits seine Reaktion ändern. Im ersten Falle bringen sie eine Wirkung hervor, die die von der Erniedrigung der Oberflächenspannung herrührende hindert; im zweiten setzen sie direkt die Tätigkeit des Ferments herab.

Einfluß einiger Toxine und Antitoxine auf das Oxydations- und Reduktionsvermögen der Gewebe.

I. Mitteilung.

Von

Andrea Pitini.

(Aus dem klinisch-chemischen Laboratorium des städt. Krankenhauses zu Palermo.)

[*Eingegangen am 25. März 1910.*]

Das Studium des Einflusses der Mikrobenprodukte auf den Organmetabolismus hat das Interesse zahlreicher Forscher wachgerufen, da es sich mit dem allgemeinen Interesse für die Immunitätsforschung verknüpft.

Die in der Literatur niedergelegten Arbeiten über den Stoffwechsel bei den experimentellen Infektionen gestatten uns überhaupt nicht, einen Vergleich dieser Arbeiten untereinander durchzuführen, und zwar wegen der Verschiedenheit der verwendeten Virus sowie wegen der abweichenden Versuchstechnik. Immerhin kann aus den Untersuchungen von Klemperer, Arloing, Decroly, Minne usw. der Schluß gezogen werden, daß im allgemeinen die verschiedenen Bakterientoxine die Abbauprozesse steigern und als wahre katabolische Gifte zu betrachten sind. Was jedoch den innersten Mechanismus dieser Wirkung anbelangt, so sind mir aus der Literatur keinerlei Angaben darüber bekannt. In einigen Arbeiten wird die toxische Wirkung der Bakterienprodukte auf die Lebensäußerungen des Protoplasmas angedeutet, aber es läßt sich darin keine experimentelle Angabe über die Änderungen des Oxydationsvermögens des Organismus finden.

Von besonderer Bedeutung ist dieser Gegenstand vom therapeutischen Gesichtspunkte aus, da er dazu geeignet ist, auf die Wirkungsweise der Antitoxine Licht zu werfen.

Bekanntlich ist den therapeutischen Seras außer der spezifischen Wirkung eine allgemeine Wirkung zugeschrieben worden, das Vermögen nämlich, mit Hilfe der Oxydasen die organischen Oxydationen anzuregen und so die Gifte zu neutralisieren. Diese Vermutung ist auf die Änderungen gestützt worden, welche die Sera im Hämoglobingehalt des Blutes und im Stickstoffaustausch hervorrufen. In der Tat fanden Merique und Foderà Vermehrung des Hämoglobins und Variot, Cochinal, Arloing Steigerung der Stickstoffausscheidung. Zu bemerken ist jedoch, daß andere Forscher zu abweichenden Resultaten kamen. So beobachteten Wlaief, Billing, daß die antitoxischen Sera den Prozentgehalt an Hämoglobin herabsetzen, während Boutig dagegen behauptete, sie riefen keinerlei hämometrische Änderungen hervor.

Andererseits fanden Johannessen und Decroly, daß die Antitoxine keinerlei Einfluß auf die innersten Phänomene des Auf- und Abbaues besitzen.

Die Hypothese von dem Oxydationsvermögen der Sera findet eine Stütze in anderen experimentellen Arbeiten.

Lusini verzeichnete den günstigen Einfluß, den das Antitetanusserum auf die Strychninvergiftung entfaltet. Lo Monaco hob auch die Wirkung anderer, nicht spezifischer Sera bei der Strychninvergiftung hervor. Foderà erzielte einen gewissen Nutzen von dem Gebrauch des Antitetanus- und Antidiphtherieserums bei der Vergiftung mit Natriumphenolat. Ich habe die Änderungen des Oxydationsvermögens des Organismus unter dem Einfluß der Toxine und der bezüglichen antitoxischen Sera untersuchen wollen.

Um überdies eine nähere Aufklärung über die Wirkung zu erhalten, welche die Toxine und Antitoxine auf die funktionelle Tätigkeit der Gewebe entfalten, habe ich auch die Änderungen des Reduktionsvermögens der alkoholischen und wässerigen Auszüge der Gewebe (Muskeln) von mit Bakteriengiften oder mit antitoxischen Sera geimpften Tieren studiert.

In dieser ersten Mitteilung werde ich kurz die bisher angestellten Versuche mit Diphtherie- und Typhustoxin darlegen,

wobei ich mir vorbehalte, das Studium des Gegenstandes fortzuführen.

Meine Versuche wurden an Kaninchen angestellt. Die Toxine wurden subcutan injiziert.

Was die Aktivität der von mir verwendeten Toxine anbelangt, so bemerke ich, daß das Diphtheriegift ein Meerschweinchen von 360 g Gewicht in 8 Tagen bei der Dosis von 0,5 ccm tötete; die tödliche Dosis für ein Kaninchen von 700 g war = 0,1 ccm.

Das Typhustoxin tötete ein Kaninchen von 800 g bei der Dosis von 1 ccm intravenös.

Zur Bestimmung des Oxydationsvermögens des Organismus benutzte ich die Methode von Nencki, indem ich die nach Verabfolgung von Benzol mit dem Urin ausgeschiedene Phenolmenge bestimmte.

Das Phenol bestimmte ich nach dem Verfahren von Koßler und Penny, das mir bei einer früheren Arbeit über die kolloidalen Metalle gute Resultate gegeben hatte.

Zur Bestimmung des Reduktionsvermögens der wässerigen und alkoholischen Muskelauszüge befolgte ich die Verfahren von Helier und Richet.

Ich teile einige der angestellten Versuche mit.

Diphtherietoxin.

I. Kaninchen von 1260 g.

29. August: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol. Der Urin wird bis zum 1. September gesammelt = 400 ccm.

5. September: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol und 0,2 ccm Diphtherietoxin.

8. September: Das Kaninchen ist eingegangen; gesammelter Urin 250 ccm.

Vor den Toxininjektionen ausgeschiedenes Phenol = 0,03286 g.
Während der „ „ „ = 0,02043 g.

II. Kaninchen von 1540 g.

7. September: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol; der Urin wird bis zum 10. September gesammelt = 575 ccm.

12. September: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol und 0,2 ccm Diphtheriegift.

16. September geht das Tier ein; gesammelter Urin 320 ccm.

Vor den Toxininjektionen ausgeschiedenes Phenol = 0,04694 g.
Während der „ „ „ = 0,01426 g.

III. Kaninchen von 1610 g.

19. September: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol; der Urin wird bis zum 22. September gesammelt = 750 ccm.

25. September: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol und 0,2 ccm Diphtheriegift.

28. September: Tier eingegangen; gesammelter Urin 400 ccm.

Vor den Toxininjektionen ausgeschiedenes Phenol = 0,05605 g.
Während der „ „ „ = 0,03272 g.

IV. Kaninchen von 1550 g.

26. September: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol; der Urin wird bis zum 29. September gesammelt = 580 ccm.

2. Oktober: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol und 0,2 ccm Diphtherietoxin.

5. Oktober: Tier am Sterben, es wird durch einen Schlag in den Nacken getötet; gesammelter Urin 310 ccm.

Vor den Toxininjektionen ausgeschiedenes Phenol = 0,03642 g.
Während der „ „ „ = 0,02360 g.

Typhustoxin.

V. Kaninchen von 1545 g.

11. Oktober: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol; der Urin wird bis zum 14. Oktober gesammelt = 520 ccm.

16. Oktober: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol und 0,5 ccm Typhusgift.

19. Oktober: Tier niedergeschlagen, wird getötet; gesammelter Urin 430 ccm.

Vor den Toxininjektionen ausgeschiedenes Phenol = 0,05722 g.
Während der „ „ „ = 0,02742 g.

VI. Kaninchen von 1230 g.

31. August: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol; der Urin wird bis zum 5. September gesammelt = 720 ccm.

9. September: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol und 0,5 ccm Typhustoxin.

12. September: Subcutane Injektion von 0,5 ccm Typhusgift.

13. September: Das Kaninchen geht ein; gesammelter Urin 480 ccm.

Vor den Toxininjektionen ausgeschiedenes Phenol = 0,06840 g.
Während der „ „ „ = 0,02644 g.

VII. Kaninchen von 1790 g.

13. September: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol; der Urin wird bis zum 16. September gesammelt = 600 ccm.

18. September: Subcutane Injektion von 1 ccm Benzol und 0,5 ccm Typhustoxin.

20. September: Subcutane Injektion von 0,5 ccm Typhustoxin.

21. September: Tier sehr niedergeschlagen, wird getötet; gesammelter Urin 510 ccm.

Vor den Toxininjektionen ausgeschiedenes Phenol = 0,05627 g.
Während der „ „ „ = 0,03730 g.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß sowohl das Diphtherie- wie das Typhustoxin das Oxydationsvermögen des Organismus herabsetzt, und dies steht im Einklang mit den Beobachtungen der Autoren über den Stoffwechsel vergifteter Tiere.

Eine Stütze findet dieses Ergebnis in den Resultaten, die ich bei den Bestimmungen des Reduktionsvermögens der Muskeln normaler und vergifteter Kaninchen erzielte. Ich stelle diese in folgender Tabelle zusammen.

Gewicht des Kaninchens g	Wässeriger Auszug. O fixiert durch 1 g Muskel	Alkoholischer Auszug. O fixiert durch 1 g Muskel	Bemerkungen
1840	0,0294	0,00074	normal
1600	0,0280	0,00088	„
1950	0,0372	0,00099	„
1750	0,0225	0,00091	„
1400	0,0228	0,00096	„
Durchschnitt	0,0279	0,00089	
1320	0,0354	0,00121	Diphtherietoxin 0,2 ccm
1450	0,0394	0,00132	„
1670	0,0387	0,00114	„
1540	0,0299	0,00162	Typhustoxin 0,5 ccm
1710	0,0344	0,00129	„
1200	0,0422	verloren gegangen	„
Durchschnitt	0,0366	0,00131	

Aus der Gesamtheit der oben mitgeteilten Versuche läßt sich entnehmen, daß unter dem Einfluß der (Diphtherie- und Typhus-) Toxine die Menge der in den wässerigen sowie in den alkoholischen Auszügen enthaltenen reduzierenden Stoffe zunimmt. Dies ist auf den schädlichen Einfluß, den die erwähnten Toxine auf die funktionelle Tätigkeit der Gewebe ausüben, und auf die Herabsetzung des Oxydationsvermögens zurückzuführen, wodurch in den Geweben die nicht vollständig oxydierten Produkte zunehmen. Einige Versuche über andere Toxine und einige Antitoxine (z. B. Diphtherieantitoxin) habe ich in Gang. Schon nach einigen Bestimmungen scheint es, als ob das Diphtherieantitoxin die Oxydationen anrege; ich warte aber eine sichere experimentelle Bestätigung ab, bevor ich mir erlaube, über diesen Punkt einen Schluß zu ziehen.

Die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf die Essigsäuregärung des Weines.

Von

Josef Schnitzler und Victor Henri.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Sorbonne in Paris.)

(Eingegangen am 19. März 1910.)

Mit 1 Figur im Text.

In der vorliegenden Arbeit haben wir die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf die Essigsäuregärung des Weines studiert, und dann nach den einzelnen Faktoren und Umständen gesucht, die diese Wirkung ausmachen.

Die Flüssigkeiten, die wir in unseren Versuchen anwandten, waren ein Gemisch aus Wein, Wasser und Eisessig, Rot- und Weißwein.

Die Weine stammten aus Algerien und waren, wie alle Weine dieses Landes, arm an Tannin, was den schnellen Umschlag in Essig begünstigt. Zum Teil wurden die Weine noch mit destilliertem Wasser zur Hälfte verdünnt, um so eine schnellere Fermentation zu erlangen.

Als Strahlenquelle diente uns eine Quarzlampe mit Quecksilberdampf der Hanauer Quarzlampengesellschaft.

Die Flüssigkeiten wurden den Strahlen in einer Porzellanschale ausgesetzt. Obgleich die Mengen zwischen 50 und 200 ccm schwankten, behielt die scheibenförmige Oberfläche, die die Flüssigkeit in der sehr flachen Schüssel den Strahlen bot, einen Durchmesser von 15 cm. Die Tiefe der Schicht schwankte zwischen 1 bis 4 cm. Um die Wirkung der starken Wärme auszuschalten, die die Lampe erzeugte, setzten wir die Schale mit Wein auf eine zweite, die mit gestoßenem Eis gefüllt war.

Wir konnten so die Temperatur der Flüssigkeiten während der Bestrahlung auf 15° halten. Der Abstand der Lampe von der Oberfläche des Weines betrug 15 cm. Um die Wirkung der Strahlen auf die Flüssigkeit zu erhöhen, rührten wir diese andauernd und gleichmäßig um. Hierzu tauchten wir einen am Ende gebogenen Glasstab, der durch eine Klammer an einem Stativ gehalten wurde, in den Wein. Die Schüsseln stellten wir auf einen kleinen Elektromotor mit vertikaler Achse, der in der Minute 30 Drehungen machte. Auf diese Art erzielten wir eine gleichmäßige und ruhige Umrührung.

Die Versuche wurden stets in Serien angestellt, und hierbei alle Manipulationen in genauer Übereinstimmung gemacht. Vor jedem Versuch wurde die Essigsäure bestimmt. Die ausgesetzten Flüssigkeiten wurden in Stehkolben gegeben, in denen wir vorher Wasser hatten kochen lassen. Die Kolben wurden mit einem Wattebausch geschlossen, und der Hals mit dem Brenner geflammt. Dann brachten wir sie mehrere Tage (3 bis 9) in einen Thermostaten, der auf 25° eingestellt war.

Die Essigsäure wurde mit Wasserdampf destilliert und in dem Destillat mit Lauge titriert.

Jede Serie enthielt eine Probe, die nicht bestrahlt war, und die uns so als Kontrolle der normalen Fermentation diente.

I.

Ein Gemisch von 100 Teilen Rotwein,
200 „ Wasser,
4 „ Eisessig

wurde so lange sich selbst überlassen, bis sich an der Oberfläche eine zarte Haut zeigte. Die Flüssigkeit wurde umgeschüttelt und in zwei Teile geteilt. Eine Portion diente als Kontrolle, und die andere wurde 30 Minuten den ultravioletten Strahlen ausgesetzt. Hierauf wurden beide Proben 9 Tage im Wärmeschrank bei 25° gehalten.

Die Essigsäurebestimmung ergab

für die Kontrolle 5,900%
für die bestrahlte Portion . 5,050%

II.

Versuch mit stichigem Rotwein.

200 ccm wurden 30 Minuten ausgesetzt und 4 Tage mit einer Kontrolle bei 25° gehalten.

Essigsäuretiter vor dem Versuch . . . 1,280%
„ der Kontrolle 5,580%
„ nach dem Versuch . . . 1,302%

III.

Versuch mit einem Rotwein, der zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt war.

200 ccm wurden 30 Minuten dem Versuch ausgesetzt und 9 Tage bei 30° aufgehoben.

Essigsäuretiter	vor dem Versuch . . .	0,190%
„	der Kontrolle	5,125%
„	nach dem Versuch . . .	2,360%

IV.

Versuch mit Rotwein, der zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt war.

2 Portionen von je 150 ccm wurden 30 Minuten den Strahlen ausgesetzt und 4 Tage bei 26° gehalten. Eine andere Portion von 150 ccm wurde mehrere Mal auf 60° erhitzt und neben den anderen aufbewahrt. Sie soll zeigen, ob während der Versuchszeit keine neue Infektion eintritt.

Essigsäuretiter	vor dem Versuch . . .	1,000%
„	der erhitzten Portion . .	1,000%
„	der Kontrolle	1,708%
„	der bestrahlten Portion .	1,030%
„	„ „ „	1,030%

V.

Versuch mit Weißwein.

2 Portionen von je 200 ccm wurden 25 Minuten der Bestrahlung ausgesetzt und 6 Tage bei 25° gehalten.

Essigsäuretiter	vor dem Versuch . . .	0,120%
„	der Kontrolle	0,299%
„	der bestrahlten Portion .	0,125%
„	„ „ „	0,120%

VI.

Versuch mit stichigem Rotwein.

2 Portionen von je 150 ccm wurden 25 Minuten der Bestrahlung ausgesetzt und 6 Tage bei 24° aufbewahrt. Eine andere Portion wurde wie in Versuch IV auf 60° erhitzt und zu den anderen gebracht.

Essigsäuretiter	vor dem Versuch . . .	2,000%
„	der erhitzten Portion . .	2,000%
„	der Kontrolle	2,900%
„	der bestrahlten Portion .	2,010%
„	„ „ „	2,013%

VII.

Versuch mit dem Wein von VI.

3 Portionen von je 150 ccm wurden 25 Minuten der Bestrahlung ausgesetzt und 5 Tage bei 25° aufbewahrt. Eine andere Portion von 150 ccm wurde mehrere Mal auf 60° erhitzt.

Essigsäuretiter vor dem Versuch . . .	2,000%
„ der erhitzten Portion . .	2,000%
„ der Kontrolle	2,756%
„ der bestrahlten Portion .	2,060%
„ „ „ „	2,068%
„ „ „ „	2,050%

VIII.

Versuch mit Weißwein bei verschieden langer Bestrahlungsdauer.

3 Portionen von je 100 ccm wurden 15, 10 und 5 Minuten der Bestrahlung ausgesetzt und dann 7 Tage bei 25° aufgehoben.

Essigsäuretiter vor dem Versuch . . .	0,103%
„ der Kontrolle	0,210%
„ bei 15 Min. Bestrahlung	0,155%
„ „ 10 „ „	0,190%
„ „ 5 „ „	0,205%

Die Lampe erzeugt in ihrer Umgebung Ozon, eine oxydierende Substanz. Wir haben daher auch den Einfluß eines anderen Oxydationsmittels studiert. In den folgenden Serien stellten wir Versuche mit stark verdünnter Wasserstoffsuperoxydlösung an. Diese Lösung wurde vorher mit Soda neutralisiert.

IX.

Versuch mit den Strahlen und H_2O_2-Lösung.

Es wurden Portionen von je 100 ccm angewandt. Die Aussetzungsdauer war verschieden. Zu 3 Portionen, die nicht bestrahlt waren, gaben wir stark verdünnte H_2O_2-Lösung. Alle Proben wurden 7 Tage bei 25° aufbewahrt.

Essigsäuretiter vor dem Versuch . . .	2,000%
„ der Kontrolle	2,700%
„ bei 20 Min. Bestrahlung	2,115%
„ „ 15 „ „	2,300%
„ „ 10 „ „	2,553%
„ 5 Tropfen H_2O_2-Lösung	2,000%
„ 3 „ „	2,155%
„ 1 „ „	2,227%

X.

Genau wie Versuch IX.

Essigsäuretiter vor dem Versuch . . .	1,530%
„ der Kontrolle	7,225%
„ bei 15 Min. Bestrahlung	2,973%
„ „ 10 „ „	3,200%
„ 5 Tropfen H_2O_2-Lösung	1,980%
„ 3 „ „	2,700%
„ 1 „ „	3,956%

XI.

Versuch mit H_2O_2-Lösung.

Zu je 200 ccm Rotwein gaben wir 5 resp. 3 und 1 Tropfen. Die Portionen wurden dann 5 Tage bei 25° aufbewahrt.

Essigsäuretiter	vor dem Versuch	1,900%
„	der Kontrolle	6,530%
„	5 Tropfen	2,103%
„	3 „	2,890%
„	1 „	3,050%

XII.

Versuch mit H_2O_2-Lösung.

Der Rotwein wurde in Versuchsröhrchen gegeben, die an ihrem unteren Ende zu kleinen Rundkolben aufgeblasen waren und von 10 ccm zur Hälfte gefüllt wurden. Die H_2O_2-Lösung, die sehr stark verdünnt war, wurde in Portionen von 8, 5, 3 und 1 Tropfen zugesetzt. Die Proben wurden alle Tage aus dem auf 25° eingestellten Wärmeschrank genommen, und nach einem Häutchen an der Oberfläche gesucht.

	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
Zeuge		Haut			
1 Tropfen		„			
3 „		∅	Haut		
5 „		∅	∅	Haut	
8 „		∅	∅	∅	Haut

Hand in Hand mit diesen Versuchen ging folgender, der durch die beistehende Figur illustriert wird.

Der Apparat stellt eine Essigsäurefabrik nach dem deutschen Verfahren dar. Aus dem Tropftrichter *A* läuft Wein[1]) über Buchenspäne durch die Röhre *B* und wird in dem Erlenmeyerkolben *C* aufgefangen. Es gelang uns, allerdings mit großer Mühe, den Apparat in Gang zu bringen, so daß wir beliebig Wein in Essig überführen konnten.

Der Apparat wurde nun gereinigt und die Röhre *B* mit neuen Spänen beschickt. Wir wiederholten das Experiment unter denselben Bedingungen, nur wandten wir Wein an, der vorher den Strahlen ausgesetzt war. Unter

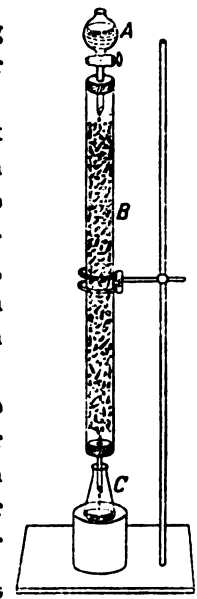


Fig. 1.

[1]) Der Rotwein muß hierzu verdünnt und mit Salzen versetzt werden.

diesen Umständen ist es uns trotz langer Mühen nie geglückt, den Apparat in Gang zu bringen. Erst als wir Wein nahmen, der nicht bestrahlt war, konnten wir nach einiger Zeit eine Steigerung des Essigsäuretiters feststellen.

Die beschriebenen Versuche beweisen, daß die ultravioletten Strahlen die Essigsäuregärung je nach der Einwirkungsdauer verlangsamen oder anhalten.

Dasselbe bewirkt auch H_2O_2. Auch der Anblick, den Wein bietet, wenn er einige Tage nach der Bestrahlung aus dem Wärmeschrank kommt, ist genau der, den Wein nach einigen Tagen bietet, wenn er vorher mit wenig H_2O_2-Lösung versetzt wurde. Die Farbe beim Rotwein ist in ein schmutziges Kaffeebraun umgeschlagen, beim Weißwein hat sie sich verdunkelt. Auf dem Boden des Kolbens liegt ein schwarzer Niederschlag. Der Geschmack ist infolgedessen derart, daß der Wein ungenießbar ist.

Wie wir schon erwähnten, bildet sich in der Umgebung der Lampe Ozon. Wir haben uns daher gefragt, welche Rolle die Luft bei den beschriebenen Erscheinungen spielt.

Hierzu setzten wir Wein unter Luftabschluß den Strahlen aus. Wir bedienten uns dabei eines Versuchsröhrchens aus Quarz, das wir mit Wein so füllten, daß beim Aufsetzen eines durchlochten Gummistopfens Wein ausfloß. Die Öffnung im Stopfen wurde durch ein kleines Glasstäbchen verschlossen. Das so gefüllte Röhrchen wurde auf 10° abgekühlt und auf Eis liegend unter die Lampe gebracht. Die Strahlen konnten so auf den Wein wirken, und die Luft war dabei völlig ausgeschaltet. Während der Aussetzungszeit, die 40 Minuten dauerte, wurde das Röhrchen oft gedreht.

Zum Vergleich diente hierbei Wein, der ebenfalls in diesem Quarzröhrchen den Strahlen ausgesetzt war. Hingegen war hierbei das Röhrchen nur halb gefüllt, so daß die Luft mitwirken konnte. Da das Röhrchen, das zu unserer Verfügung war, nur 13 ccm faßte, so mußten wir stets zweimal die Bestrahlung vornehmen. Die Flüssigkeiten wurden in geflammte Versuchsröhren von 3 cm lichter Weite gegeben, nach bekannter Weise geschlossen und in den Wärmeschrank gebracht.

A.

Essigsäuretiter vor dem Versuch . .	1,550%
„ der Kontrolle	2,380%
„ mit einer Luftschicht	1,800%
„ bei Luftabschluß . .	2,360%

B.

Essigsäuretiter vor dem Versuch . .	1,680%
„ der Kontrolle	2,150%
„ mit einer Luftschicht	1,700%
„ bei Luftabschluß . .	2,100%

C.

Essigsäuretiter vor dem Versuch . .	1,950%
„ der Kontrolle	2,345%
„ mit einer Luftschicht	2,003%
„ bei Luftabschluß . .	2,340%

Diese sowie alle folgenden Versuche wurden mit rotem Algierwein gemacht. Die Proben blieben 48 Stunden im Wärmeschrank bei 27°. In den folgenden Versuchen haben wir die Essigsäure nicht mehr bestimmt, sondern uns nur nach einem Häutchen an der Oberfläche der Versuchsflüssigkeiten gerichtet.

D.

Kontrolle	Haut
Mit Luftschicht . .	∅
Bei Luftabschluß .	Haut

E.

Kontrolle	Haut
Mit Luftschicht . .	∅
Bei Luftabschluß .	Haut

F.

Kontrolle	Haut
Mit Luftschicht . .	∅
Bei Luftabschluß .	Haut

Diese 6 Versuche zeigen, welche bedeutende Rolle die Luft bei der Wirkung der ultravioletten Strahlen spielt.

Es lag nun die Frage nahe, ob nicht die ozonhaltige Luft allein diese Wirkung verursacht.

Hierzu ließen wir die Luft in der Umgebung der Lampe[1]) durch 30 ccm Rotwein passieren, die sich in einem Versuchsröhrchen befanden, das nach Art einer Spritzflasche verschlossen war. Wir erreichten das dadurch, daß wir einen Trichter unter die Lampe brachten, der durch einen Schlauch mit dem langen Röhrchen des Spritzflaschenverschlusses verbunden war. Durch ausfließendes Wasser saugten wir die Luft in der Umgebung der Lampe durch den Wein.

[1]) Die Lampe wurde $^1/_2$ Stunde vor dem Versuch angezündet.

In 3 resp. 2 und 1 Stunde ließen wir 8 l Luft durch den Wein streichen.

Unter denselben Bedingungen stellten wir Parallelversuche an, wobei aber die Lampe nicht angezündet wurde.

Die Versuchsflüssigkeiten wurden 2 Tage bei 27° im Wärmeschrank gelassen.

1.

In 3 Stunden passierten 8 l Luft.

Essigsäuretiter vor dem Versuch	1,955%
„ bei angezündeter Lampe	2,340%
„ „ erloschener „	2,480%

2.

In 2 Stunden passierten 8 l Luft.

Essigsäuretiter vor dem Versuch	2,050%
„ bei angezündeter Lampe	2,430%
„ „ erloschener „	2,560%

3.

In 1 Stunde passierten 8 l Luft.

Essigsäuretiter vor dem Versuch	1,970%
„ bei angezündeter Lampe	2,400%
„ „ erloschener „	2,450%

Es erhellt aus diesen 3 Versuchen, daß die Luft nicht allein der wirkende Faktor ist, sondern daß die Bestrahlung nötig ist.

Wir haben nun noch untersucht, welches die Strahlen sind, die hauptsächlich wirken. Hierzu haben wir das Spektrum der Quecksilberquarzlampe mit einem Spektrograph mit Quarzprisma photographiert. Die Linien dieses Spektrums sind folgende: 5790. 5769. 5461. 4959. 4916. 4358. 4046. 3988. 3908. 3663. 3654. 3650. 3341. 3131. 3125. 3021. 2967. 2925. 2893. 2847. 2820. 2805. 2759. 2752. 2699. 2675. 2655. 2653. 2652. 2567. 2536. 2534. 2482. 2464. 2446. 2399. 2378. 2345. 2301. 2262. 2224. Von diesen Strahlen läßt der Rotwein diejenigen bis 3650 durch. Der Weißwein läßt noch die Linien 3341, 3131, 3125 und 3021 passieren. Der Teil des ultravioletten Spektrums unterhalb 3021 wird durch den Wein völlig aufgehalten. Genau wie der Wein verhält sich auch das Glas. Auch dieses läßt nur die Strahlen bis zur Wellenlänge 3021 durch. Man hat also hierin ein Mittel an der Hand, die Strahlen unterhalb 3021 auszuschalten und die Wirkung des andern Teils des ultravioletten Spektrums allein zu studieren.

Wir haben das getan und haben dabei die Versuche in derselben Weise angeordnet wie die mit dem Quarzröhrchen, die unter A. bis F. beschrieben sind. An Stelle des Quarzröhrchens nahmen wir ein solches aus Glas.

a.

Essigsäuretiter vor dem Versuch	1,900%
„ der Kontrolle	2,640%
„ mit Luft im Glasröhrchen .	2,600%

b.

Essigsäuretiter vor dem Versuch	1,920%
„ der Kontrolle	2,700%
„ mit Luft im Glasröhrchen .	2,657%

c.

Essigsäuretiter vor dem Versuch	0,850%
„ der Kontrolle	1,973%
„ mit Luft im Glasröhrchen .	1,950%

Bei den folgenden 3 Versuchen wurde die Essigsäure nicht mehr bestimmt, sondern nur noch nach einem Häutchen an der Oberfläche gesucht.

d.

Kontrolle	Haut
Mit Luft im Glasröhrchen . .	Haut

e.

Kontrolle	Haut
Mit Luft im Glasröhrchen . .	Haut

f.

Kontrolle	Haut
Mit Luft im Glasröhrchen . .	Haut

Es ergibt sich hieraus, daß es tatsächlich die Strahlen unterhalb 3021 sind, welche die Wirkung hervorrufen.

Fassen wir nun alle Erfahrungen der beschriebenen Versuche zusammen, so kommen wir zu folgendem Schluß: Die ultravioletten Strahlen halten die Essigsäuregärung des Weines auf. Hierbei ist die Gegenwart der Luft nötig. Es sind die Strahlen unterhalb 3021, die wirken. Der Wein selbst erfährt hierbei die schon beschriebenen tiefgehenden Veränderungen.

Da alle diese Wirkungen der ultravioletten Strahlen auch durch geringe Mengen H_2O_2-Lösung hervorgerufen werden, und auch bei der Bestrahlung die Gegenwart der Luft unerläßlich ist, so müssen wir die beschriebenen Erscheinungen als die Ergebnisse einer Oxydation ansehen.

Über das Verhalten der Furfurpropionsäure im Tierkörper.

Von

Takaoki Sasaki, Tokio.

(Aus dem Laboratorium der I. med. Universitätsklinik zu Berlin.)

(Eingegangen am 19. März 1910.)

Die Gesetzmäßigkeiten, denen der Abbau der Fettsäuren im Tierkörper unterliegt, sind bisher an Durchblutungsversuchen mit aliphatischen Fettsäuren oder durch Fütterungsversuche mit phenylsubstituierten aromatischen Fettsäuren ermittelt worden.[1]) In beiden Fällen zeigte der Tierkörper ein so großes Abbauvermögen für die untersuchten Substanzen, daß man sich damit begnügen mußte, die Beziehungen der unter den gewählten Versuchsbedingungen erhaltenen Endprodukte zu den eingeführten Substanzen festzustellen, so die Bildung der Acetessigsäure aus den normalen Fettsäuren mit gerader Kohlenstoffatomzahl und aus gewissen verzweigten Säuren und die Entstehung der Hippursäure und der Phenacetursäure aus den endständig phenylsubstituierten Fettsäuren mit ungerader bzw. gerader Atomzahl der Seitenkette. Nur in wenigen Fällen sind Zwischenprodukte des Abbaues isoliert worden. Von diesen Zwischenprodukten hat die Isolierung des Glykokollderivates der Zimtsäure bei der Fütterung von Phenylpropionsäure[2])

---

[1]) Diesbezügliche Literatur ist zusammengestellt in dem Vortrag von E. Friedmann „Über den Abbau der Fettsäuren im Tierkörper" in der Physiologischen Gesellschaft zu Berlin, am 2. Juli 1909. Med. Klinik 1909, Nr. 36 u. 37.

[2]) H. D. Dakin, Comparative studies of the mode of Oxidation of phenyl derivatives of fatty acids bei the animal organism and by hydrogen peroxide. Journ. of Biolog. Chem. 4, 419 bis 435.

und Phenylvaleriansäure[1]) durch Dakin unser Interesse in Anspruch genommen, weil dieser Befund im Zusammenhang mit der durch E. Friedmann[2]) entdeckten Übereinstimmung des Abbaues der α-β-ungesättigten Säuren mit den zugehörigen gesättigten Säuren zu der Vermutung führen konnte, in diesen α-β-ungesättigten Säuren regelmäßige Zwischenprodukte des Abbaues der gesättigten Säuren zu sehen. Bei der Prüfung dieser Vorstellung boten Fütterungsversuche mit phenylsubstituierten Fettsäuren wenig Hoffnung auf eine erfolgreiche Lösung, da die Isolierung des Cinnamoylglycins recht schwierig und mühsam ist. Dagegen hofften wir durch Einführung eines anderen Kernes als des Benzolrestes in die untersuchten Fettsäuren der Lösung der aufgeworfenen Frage näher zu kommen. Wir zogen deshalb die Furanderivate zu unserer Untersuchung heran und wurden in der Wahl gerade dieser Gruppe durch die bereits früher gewonnenen Fütterungsresultate bestärkt. Bei der Fütterung des Aldehyds des Furans, des Furfurols, haben nämlich Jaffé und Cohn[3]) beobachtet, daß diese Substanz ganz analog der Perkinschen Synthese im Tierkörper in Furfuracrylsäure umgewandelt wird und unter Paarung mit Glykokoll als Furfuracrylursäure zur Ausscheidung gelangt. Für Furfuracrylsäure liegen also im Gegensatz zu dem entsprechenden Benzolderivat, der Zimtsäure, besonders günstige Verhältnisse der Ausscheidung im Tierkörper vor, und wir durften daher hoffen, gerade durch Verfütterung von Furanderivaten über die Stellung der α-β-ungesättigten Säuren im intermediären Stoffwechsel Auskunft zu erhalten. Diese Untersuchung übergab mir Herr Prof. E. Friedmann.

---

[1]) H. D. Dakin, The mode of oxydation in the animal organism of phenylderivates of fatty acids. IV. Further studies on the fate of phenylpropionie acid and some of its derivates. Journ. of Biolog. Chem. 6, 203 bis 219, 1909. V. Studies on the fate of phenylvalerie acid and its derivates. Journ. of Biolog. Chem. 6, 221 bis 233.

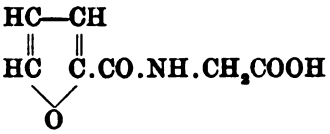
[2]) E. Friedmann, Zur Kenntnis des Abbaues der Karbonsäuren im Tierkörper. VIII. Mittlg. Über das Verhalten der α-β-ungesättigten Säuren bei der Leberdurchblutung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 371, 1908.

[3]) M. Jaffé und Rud. Cohn, Über das Verhalten des Furfurols im tierischen Organismus. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., 20, 2311. 1887.

I. Chemischer Teil.

Da eine erfolgreiche Bearbeitung dieses Gebietes eine genaue Kenntnis der zu erwartenden Zwischenprodukte zur Voraussetzung hatte, habe ich zuerst die Synthese dieser Substanzen in Angriff genommen.

Synthese der Pyromykursäure.



Die Synthese der Pyromykursäure ist bereits von Baum[1]) ausgeführt worden. Ohne Kenntnis dieser Versuche habe ich die folgende Synthese ausgeführt, und da Baum ein etwas anderes Verfahren als ich befolgt hat, erlaube ich mir, noch die nachstehende Synthese mitzuteilen:

Das Pyroschleimsäurechlorid stellte ich durch Chlorierung der Pyroschleimsäure mit Thionylchlorid und nachfolgende fraktionierte Destillation dar.

10 g Glykokoll werden in 133 ccm $^n/_1$-Natronlauge (1. Mol.) gelöst. Die Lösung wird mit Eis gut gekühlt und unter kräftigem Schütteln abwechselnd in kleinen Portionen mit 170 ccm ebenfalls mit Eis gekühlter $^n/_1$-Natronlauge und 15 g Pyroschleimsäurechlorid versetzt. Nach der Beendigung des Prozesses, der etwa 40 Minuten in Anspruch nimmt, wird die Flüssigkeit filtriert und das Filtrat mit 35 ccm 5 $^n/_1$-Säure versetzt. Beim Stehen in der Kälte scheiden sich bald weiße, schöne Krystallnadeln aus. Die Krystalle werden abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Ihre Menge beträgt 9,4 g. Sie haben bereits den richtigen Schmelzpunkt von 165° (unkorr.). Die Mutterlauge wird bei 40° unter vermindertem Druck eingeengt, wodurch noch 6,7 g Substanz gewonnen werden. Ausbeute 82,8% der Theorie.[2]) Die so gewonnene Substanz

[1]) E. Baum, Brenzschleimsäurechlorid als Acylierungsmittel. Synthese der Pyromykursäure. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., 37, 2949. 1904.

[2]) Durch Anwendung eines Überschusses an Säurechlorid könnte wohl noch die Ausbeute in theoretischer Hinsicht (d. h. die Berechnung auf Glykokoll bezogen) gesteigert werden. Es wurde aber darauf verzichtet, weil einerseits das Brenzschleimsäurechlorid ein schwerer zugängliches Material wie Glykokoll ist, andererseits dabei durch gleichzeitig ausfallende Pyroschleimsäure die Reinigung mühsamer wird.

ist schon ziemlich rein. Sie wird noch einmal aus heißem Wasser umkrystallisiert und zur Analyse bei 100° getrocknet. Der Schmelzpunkt der reinen Substanz liegt bei 165° (unkorr.).

0,1544 g Subst.: 0,2809 g CO_2, 0,0584 g H_2O.

$C_7H_7NO_4$: Ber.: C 49,69, H 4,17.

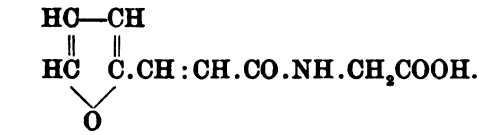
Gef.: C 49,62, H 4,23.

0,1563 g Subst.: 11,3 ccm N (20°, 751 mm).

Ber.: N 8,29. Gef.: N 8,33.

Die so gewonnene Pyromykursäure ist sehr schwer löslich in Äther, kaum löslich in Petroläther, Benzol und Chloroform. Sie ist in Wasser und in absolutem Äthylalkohol in der Kälte ziemlich schwer löslich; sie löst sich jedoch in der Wärme in diesen Lösungsmitteln ziemlich leicht. Auch in Essigäther, aus dem die Pyromykursäure besonders leicht und schön krystallisiert, ist sie löslich, besonders in der Wärme. Im Methylalkohol und in Aceton ist die Substanz spielend leicht löslich. In konzentrierter Salzsäure gelöst und erwärmt, zeigt sie weder Grünfärbung wie Furfuracrylursäure noch Dunkelrotfärbung wie Furfurpropionylglycin.

Synthese der Furfuracrylursäure.



Die Synthese der Furfuracrylursäure wurde in der üblichen Weise durch Wechselwirkung von Furfuracrylsäurechlorid und Glykokoll ausgeführt. Das hierzu notwendige Furfuracrylsäurechlorid habe ich durch Einwirkung von Thionylchlorid auf Furfuracrylsäure erhalten.

1. Darstellung des Furfuracrylsäurechlorids.

15 g Furfuracrylsäure werden mit 75 g Thionylchlorid auf dem Wasserbade unter Rückflußkühlung 1 Stunde zum Sieden erwärmt. Das überschüssige Thionylchlorid wird bei 40° unter 15 mm Druck abdestilliert. Nachdem das überschüssige Thionylchlorid abdestilliert ist, wird der Destillationsrückstand von neuem im Ölbad destilliert. Das Säurechlorid geht unter 10 mm Druck bei 105 bis 106° über. Das bräunlichgelbe Destillat erstarrt bald zu einer harten, weißen, an der Wand

des vorgelegten Destillationskolbens ausstrahlenden Krystallmasse. Die Ausbeute beträgt 14,5 g, entsprechend 86,8% der Theorie. Zur Analyse wird das Chlorid noch einmal destilliert. Furfuracrylsäurechlorid hat die allgemeinen Eigenschaften der Säurechloride. Es riecht stechend und reizt die Schleimhäute. An der Luft nimmt es sehr leicht Dunkelfärbung an. Es ist in Äther sehr leicht löslich und schmilzt bei ca. 34° (unkorr.).

0,2223 g Subst.: AgCl 0,2069.

$C_7H_5O_2Cl$: Ber.: Cl 22,6. Gef.: 23,0.

2. Darstellung der Furfuracrylursäure.

3 g Glykokoll (2 Mol.) werden in 40 ccm (2 Mol.) Normalnatronlauge gelöst. Die Lösung wird gut in Eis gekühlt und mit 3,2 g Furfuracrylsäurechlorid, das in ca. 40 ccm wasserfreiem Äther gelöst ist, versetzt. Das Gemisch wird zuerst $^1/_4$ Stunde in Eis, darauf 1 Stunde bei gewöhnlicher Temperatur mittels einer Schüttelmaschine geschüttelt. Danach werden von neuem 20 ccm $^n/_1$-Natronlauge zugesetzt und noch weiter 1 Stunde geschüttelt. Nach noch einmaligem Zusatz von 20 ccm $^n/_1$-Natronlauge und darauffolgendem Schütteln von $^1/_2$ Stunde wird die wässerige, grüngefärbte Flüssigkeit im Scheidetrichter vom Äther getrennt, filtriert und mit 17 ccm 5 $^n/_1$-Salzsäure versetzt. Die sofort ausfallenden Krystalle werden abgesaugt, mit kaltem Wasser sorgfältig gewaschen und zuerst im Vakuum über Schwefelsäure, nacher bei 100° getrocknet. Um die beigemischte freie Furfuracrylsäure zu entfernen, wird die ganze Masse mit ca. 50 ccm absolutem Äther verrührt und über Nacht stehen gelassen. Dann wird sie abgesaugt und mit Äther sorgfältig ausgewaschen. Die Substanz hat bereits den richtigen Schmelzpunkt. Die Ausbeute beträgt 1,8 g, entsprechend 46,1% der Theorie.

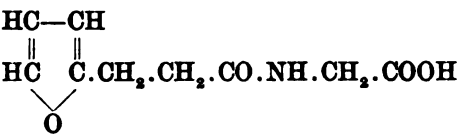
Die Ausbeute läßt zwar zu wünschen übrig, aber die zurückgebildete Furfuracrylsäure kann aus der ätherischen Lösung fast quantitativ wieder gewonnen werden. Aus viel siedendem Wasser umkrystallisiert wird Furfuracrylsäureglycin in schönen, schwachgelblichen, feinen Nadeln erhalten. Die Substanz fängt an sich bei ca. 215° zu bräunen und schmilzt bei 218 bis 219° (unkorr.).

Zur Analyse wurde die Substanz bei 100° getrocknet.

0,1596 g Subst.: 0,3237 g CO_2, 0,0681 g H_2O.
$C_9H_9NO_4$: Ber.: C 55,36, H 4,65.
Gef.: C 55,33, H 4,78.
0,1705 g Subst.: 10,6 ccm (19°, 758 mm).
Ber.: N 7,18. Gef.: N 7,25.

Die Furfuracrylursäure zeigt nach Erwärmen ihrer Lösung in konzentrierter Salzsäure intensive Grünfärbung. Sie ist äußerst schwer löslich in Äther und in kaltem Wasser. Sie löst sich jedoch reichlich in heißem Wasser und kann daher aus Wasser sehr gut umkrystallisiert werden. In Petroläther, Benzol und Chloroform ist sie kaum löslich. In absolutem Alkohol ist sie schwer löslich, jedoch löst sie sich in 93%igem Alkohol, besonders in der Wärme. Sie ist in Aceton und in Methylalkohol leicht löslich, in Essigäther dagegen ziemlich schwer löslich.

Synthese des Furfurpropionylglycins.



Die Synthese des Furfurpropionylglycins habe ich etwas anders ausgeführt, da ich bei der Darstellung des Furfurpropionylchlorids Schwierigkeiten begegnete. Ich reduzierte die synthetische Furfuracrylursäure mit Natriumamalgam und erhielt so glatt das gesuchte Furfurpropionylglycin.

2 g Furfuracrylursäure werden in 50 ccm $^n/_5$-Natronlauge gelöst. Die Lösung wird portionsweise unter beständigem Schütteln mit 2%igem Natriumamalgan so lange versetzt, bis in einer Probe nach Neutralisation resp. Ansäuern keine Fällung mehr entsteht. Die Flüssigkeit wird nun filtriert, mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert und auf 15 ccm eingeengt. Nach Ansäuern mit 5 ccm verdünnter Schwefelsäure wird die eingeengte Flüssigkeit mit Äther 12 Stunden extrahiert. Die nach Abdestillieren des Äthers zurückbleibende, krystallinisch erstarrende Masse wird in Alkohol gelöst und eingeengt. Beim Erkalten erstarrt die eingeengte Flüssigkeit zu einer drusigen Krystallmasse. Um sie von der Mutterlauge zu befreien, wird die Substanz mit Äther verrührt, abgesaugt und

mit Äther gut ausgewaschen. Ihre Menge beträgt 1,6 g. Aus der eingeengten Mutterlauge werden noch 0,35 g Substanz gewonnen. Ausbeute: 96,5% der Theorie.

Zur Analyse wurde die Substanz bei 75° getrocknet.

0,1260 g Subst.: 0,2519 g CO_2, 0,0677 g H_2O.

$C_9H_{11}NO_4$: Ber.: C 54,55, H 5,63.
Gef.: C 54,52, H 6,01.

0,1366 g Subst.: 8,11 ccm N (16,7°, 767 mm).
Ber.: N 7,10. Gef.: N 7,06.

Der Schmelzpunkt der Substanz liegt bei 118° (unkorr.).

Furfurpropionylglycin ist löslich in Wasser und in Äthylalkohol, auch in absolutem Äthylalkohol. In Äther ist es ziemlich schwer löslich, aber relativ leichter als Furfuracrylursäure und Pyromykursäure. Es ist kaum löslich in Petroläther, Chloroform und Benzol. Spielend leicht löslich ist es in Aceton und in Methylalkohol.

II. Fütterungsversuche.

Nachdem ich die Eigenschaften der geschilderten Verbindungen kennen gelernt hatte, ging ich zu den Fütterungsversuchen über. Ich verfütterte Furfurpropionsäure und applizierte diese Substanz als Natriumsalz einem mit Fleisch gefütterten Hunde von 10 kg in täglichen Dosen von ca. 2 g subcutan. Bei der Aufarbeitung des Harns konnte durch Destillation eine geringe Menge einer Substanz gewonnen werden, die ein schön krystallisierendes p-Nitrophenylhydrazon lieferte, dessen Untersuchung noch nicht abgeschlossen ist. Aus dem Ätherextrakte habe ich zwei Substanzen isolieren können, von denen die eine als Furfuracrylursäure, die andere als Pyromykursäure identifiziert werden konnte. Daneben ist noch in geringer Menge ein drittes Umwandlungsprodukt der Furfurpropionsäure vorhanden, das wegen seiner Schwerkrystallisierbarkeit noch nicht genügend charakterisiert werden konnte, aber nach seiner Farbenreaktion möglicherweise Furfurpropionylglycin ist. Furfur-β-oxypropionsäure, die man nach Analogie mit dem Verhalten der Phenylpropionsäuren im Tierkörper erwarten konnte, habe ich nicht auffinden können, und die Tatsache, daß die wässerige Lösung des Ätherextrakts überhaupt keine Drehung zeigt, macht die Anwesenheit dieser Säure im Ätherextrakt recht zweifelhaft. Von mehreren Fütterungsversuchen, die mit Furfurpropionsäure

ausgeführt worden sind, beschreibe ich im folgenden nur einen, bei dem die Hauptumwandlungsprodukte der Furfurpropionsäure nach Möglichkeit quantitativ isoliert worden sind.

Einem Hunde von 10 kg, der mit Fleisch gefüttert war, wurden 3 Tage hintereinander je 2 g und am 4. Tage 3 g, zusammen 9 g Furfurpropionsäure, die mit Natronlauge neutralisiert wurden, unter die Haut gespritzt. Der gesammelte Harn der Fütterungstage und des Nachtages wurde eingedampft und der erhaltene Rückstand wiederholt in der Wärme mit reichlichen Mengen Alkohol extrahiert. Der wieder abgedampfte Alkoholextrakt wurde in 120 ccm Wasser gelöst, mit 50 ccm 25%iger Phosphorsäure angesäuert und mit Äther im Zelmanowitzschen Apparat extrahiert:

1. Extraktion: 8 Stunden,
2. Extraktion: 10 „ ,
3. Extraktion: 4 Tage (tägl. ca. 10 Stunden),
4. Extraktion: 3 „ („ „ 10 „).

Im 1. und 2. Ätherextrakte waren Krystalle ausgeschieden, im 3. und 4. Krystalle mit Sirup gemengt.

Die Aufarbeitung des Ätherextraktes wurde dadurch erleichtert, daß sich die ausgeschiedenen Krystalle als schwer löslich in Wasser erwiesen, während der ätherunlösliche Sirup in Wasser leicht löslich war. Daraus ergab sich die gesonderte Bearbeitung der ätherunlöslichen Krystalle (A), der ätherischen Lösung (B) und des ätherunlöslichen Sirups, der vereint mit den anderen in Wasser leicht löslichen Anteilen untersucht wurde (C).

A. Verarbeitung der ätherunlöslichen Krystalle.

Die abgesaugten Krystalle der 1. und 2. Extraktion wurden mit kaltem Wasser verrührt, abgesaugt und sorgfältig mit kaltem Wasser nachgewaschen. Die so gewonnene, in kaltem Wasser äußerst schwer lösliche Substanz wog getrocknet 2,05 g.

Die 3. Extraktion wurde nach Abgießen des Äthers noch einmal mit frischem Äther geschüttelt und der Äther abgegossen. Der teils ölige, teils feste Rückstand wurde auf dem Wasserbade erwärmt, bis der Äthergeruch verschwunden war, und nach dem Erkalten mit kaltem Wasser, das nur den Sirup, nicht aber die Krystalle löste, verrührt. Die zurückbleibenden Krystalle wurden abgesaugt, sorgfältig mit Wasser abgespült und getrocknet. Ihre Menge betrug 0,5 g.

Die 4. Extraktion wurde in derselben Weise behandelt. Die zurückgebliebenen, in kaltem Wasser äußerst schwer löslichen Krystalle wogen getrocknet 0,15 g. Diese 3 Portionen Krystalle, zusammen 2,7 g, waren rohe Furfuracrylursäure. Sie wurden nach Entfärbung mit Tierkohle aus siedendem Wasser umkrystallisiert und schieden sich in schönen, feinen, schwach gelblichen Nadeln aus. Sie wogen getrocknet 2,1 g. Ihr Schmelzpunkt lag bei 218 bis 219° (unkorr.).

Zur Analyse wurde die Substanz noch einmal ohne Zusatz von Tierkohle aus siedendem Wasser umkrystallisiert und bei 100° getrocknet.

0,1288 g Subst.: 0,2605 g CO_2, 0,0570 g H_2O.
$C_9H_9NO_4$: Ber.: C 55,36, H 4,65.
Gef.: C 55,16, H 4,95.
0,1460 g Subst.: 9,39 ccm N (18,9°, 748 mm).
Ber.: N 7,18. Gef.: N 7,3.

Bei der Mischprobe mit der synthetischen Furfuracrylursäure wurde der Schmelzpunkt ebenfalls bei 218 bis 219° erhalten, so daß die isolierte Substanz mit der synthetischen Furfuracrylursäure identisch ist. Auch die Löslichkeitsverhältnisse sind vollkommen übereinstimmend. Ebenso gibt die isolierte Substanz intensive Grünfärbung nach Erwärmen mit konz. Salzsäure.

Hier möchte ich darauf aufmerksam machen, daß Jaffé und Cohn den Schmelzpunkt der isolierten Furfuracrylursäure niedriger gefunden haben. Nach ihren Angaben fängt die Furfuracrylursäure bei 208° an, sich zu bräunen, und schmilzt bei 213 bis 215°. Bei der Analyse fanden Jaffé und Cohn zu hohen Stickstoffgehalt, was sie als Folge einer geringen Verunreinigung erklärten. Auch der etwas zu niedrig gefundene Schmelzpunkt scheint hierfür zu sprechen.

B. Verarbeitung der ätherischen Lösung.

Die von Krystallen und Sirup befreiten ätherischen Lösungen der 1., 2., 3. und 4. Extraktion wurden abdestilliert und einige Tage stehen gelassen. Nur der Rückstand des 1. Ätherextraktes wurde mit Petroläther ausgekocht, um die Fette zu entfernen. Nach mehrtägigem Stehen hatten sich aus dem Sirup Krystalle ausgeschieden, die jedoch beim Anrühren mit kaltem Wasser wieder in Lösung gingen. Mit Tierkohle behandelt, filtriert und polarisiert, zeigte die wässerige Lösung

keine Drehung. Nach dem Einengen blieb ein Sirup zurück, der nicht zur Krystallisation zu bringen war. (Über die Aufarbeitung dieses Sirups siehe weiter unten.)

C. Verarbeitung des Sirups und der in Wasser leicht löslichen Anteile.

Die wässerigen Extrakte der 1., 2., 3. und 4. Extraktion wurden vereinigt, mit Tierkohle in der Wärme behandelt und die Drehung der Lösung im Polarisationsapparat untersucht. Die Lösung erwies sich als optisch völlig inaktiv. Sie wurde eingedampft und im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure stehen gelassen. Da Vorproben ergeben hatten, daß ein Teil des Sirups aus Alkohol leicht krystallisiert, wurde der Sirup wieder mit Alkohol auf dem Wasserbade gelöst, zum Sirup eingeengt und im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure 2 Tage stehen gelassen. Die auskrystallisierte Masse wurde mit absolutem Alkohol vom Sirup getrennt, mit absolutem Alkohol gewaschen und darauf getrocknet.

Die so erhaltenen Krystalle konnten leicht als Harnstoff identifiziert werden. Der vom Harnstoff durch absoluten Alkohol getrennte Sirup wurde mit dem aus der Verarbeitung der ätherischen Lösung (B) zurückbleibenden, nicht zur Krystallisation zu bringenden Sirup vereinigt, und nach Verjagen des Alkohols auf dem Wasserbade in Wasser aufgenommen. Die bräunliche, wässerige Lösung wurde darauf wieder mit Tierkohle in der Wärme entfärbt, filtriert und auf etwa 15 ccm eingedampft. Nach Zusatz von 5 ccm 25%iger Phosphorsäure wurde die Flüssigkeit von neuem mit Äther im Extraktionsapparat extrahiert, und zwar in 2 Portionen. Die 1. Extraktion dauerte etwa 6 Stunden, die 2. Extraktion etwa 12 Stunden.

Die 1. Extraktion wurde nach Abdestillieren des Äthers in absolutem Alkohol gelöst, die Lösung eingedampft und im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure stehen gelassen. Nach 2 Tagen mit Essigäther verrührt, verwandelte sich die ganze Masse sofort in einen Brei von Krystallen, die abgesaugt und mit kaltem Essigäther gewaschen wurden. Nach dem Trocknen betrug ihre Menge 0,65 g. Das Rohprodukt schmilzt bei ca. 160°. Nach einmaligem Umkrystallisieren aus Essigäther hatte die Substanz den Schmelzpunkt der Pyromykursäure von 165°.

Sie zeigte dieselben Löslichkeitsverhältnisse wie die synthetische Pyromykursäure und stimmte auch in ihren übrigen Eigenschaften vollkommen mit dieser überein. Die Mischprobe der aus dem Harn gewonnenen Substanz mit der synthetischen Pyromykursäure zeigte den Schmelzpunkt der Pyromykursäure, der scharf bei 165° lag.

Die Mutterlauge, die nach Abdampfen des Essigäthers wieder als ein Sirup zurückgeblieben war, zeigte, mit konz. Salzsäure erwärmt, dunkelrote Färbung, wie sie für Furfurpropionsäure resp. Furfurpropionylglycin charakteristisch ist.

Die 2. Extraktion wurde nach Abdestillieren des Äthers in absolutem Alkohol gelöst, die Lösung eingeengt und im Vakuumexsiccator über Chlorcalcium stehen gelassen. Sie erstarrte hierbei zu einer bräunlichgelben Krystallmasse. Diese Krystallmasse wurde auf einer Tonplatte ausgebreitet und über Nacht auf der Tonplatte gelassen. Die hierdurch farblos erhaltenen Krystalle wurden getrocknet. Ihre Menge betrug 1,35 g. Das Rohprodukt wurde aus Essigäther umkrystallisiert. Die so gewonnene Substanz (Schmelzpunkt 165°, unkorr.) konnte ebenfalls als Pyromykursäure identifiziert werden. Zur Analyse wurde sie noch einmal aus Wasser umkrystallisiert und bei 100° getrocknet.

0,1031 g Subst.: 0,1900 g CO_2, 0,0401 g.
$C_7H_7NO_4$: Ber.: C 49,69, H 4,17.
Gef.: C 50,26, H 4,36,
0,1364 g Subst.: 9,8 ccm N (16°, 753 mm).
Ber.: N 8,29. Gef.: N 8,41.

Zusammenfassung.

Von den isolierten Umwandlungsprodukten der Furfurpropionsäure entsteht die Furfuracrylursäure als Hauptprodukt des Abbaues der Furfurpropionsäure; es konnten 2,7 g Furfuracrylursäure isoliert werden, die 21,5% der eingeführten Furfurpropionsäure entsprechen. Etwa 18,4% der Furfurpropionsäure werden als Pyromykursäure ausgeschieden, so daß sich im ganzen nachweislich 39,9% der verfütterten Furfurpropionsäure der Zerstörung im Tierkörper entziehen.

Die Deutung für die mitgeteilte Beobachtung, daß die ungesättigte Furfuracrylursäure als Hauptprodukt der faßbaren

Umwandlungsprodukte der Furfurpropionsäure entsteht, wird durch die Tatsache, daß die Furfuracrylsäure im Tierkörper auch synthetisch gebildet werden kann, naturgemäß kompliziert. Sollte diese Möglichkeit für die Entstehung der Furfuracrylsäure aus Furfurpropionsäure in Betracht kommen, so würde sie die intermediäre Bildung des Aldehyds des Furans, des Furfurols, voraussetzen, eine Annahme, für die vorläufig keine experimentellen Anhaltspunkte vorliegen. Nach der Menge der isolierten Furfuracrylursäure zu urteilen, ist diese Annahme wenig wahrscheinlich, denn die Furfuracrylursäure entsteht nach Jaffé und Cohn[1]) bei Fleischnahrung im Maximum zu 1% des verfütterten Furfurols, während bei Verfütterung der Furfurpropionsäure 21,5% Furfuracrylursäure gebildet werden.

Eine andere Deutung würde von der Annahme ausgehen, daß die Furfuracrylsäure aus intermediär gebildeter Furfur-β-oxypropionsäure durch Wasserabspaltung entsteht, eine Möglichkeit, mit deren experimenteller Prüfung wir zurzeit beschäftigt sind.

Führen also diese Vermutungen dazu, die Beziehungen der Furfuracrylsäure zu der eingeführten Substanz experimentell festzustellen, so bieten sie auf der anderen Seite eine interessante Fragestellung nach der Beziehung der Furfuracrylsäure zu dem zweiten Umwandlungsprodukt der Furfurpropionsäure, der Pyromykursäure. Auch hierüber sind Versuche in unserem Laboratorium im Gange.

Unabhängig von diesen Vermutungen, deren experimentelle Prüfung leicht auszuführen ist, zeigen die mitgeteilten Beobachtungen, daß die Voraussetzung, von der unsere Versuche ausgegangen sind, zu Recht bestehen, und daß wir in der Tat in der Prüfung des Verhaltens der Furanderivate im Tierkörper ein Material in der Hand haben, um über die Stellung der α-β-ungesättigten Säuren im intermediären Stoffwechsel Auskunft zu erhalten.

[1]) Jaffé und Cohn, l. c. S. 2314.

Über Hyperglykämie bei Hochdrucknephritis und die Beziehungen zwischen Glykämie und Glucosurie beim Diabetes mellitus.

Von

Ernst Neubauer.

(Aus der ersten medizinischen Universitätsklinik in Wien.)

(Eingegangen am 18. März 1910.)

In einer aus der Frankfurter Krankenhausabteilung v. Noordens erschienenen Arbeit teilten Liefmann und Stern[1]) den interessanten Befund mit, daß mit der Dauer einer Diabeteserkrankung die Höhe des eben Glucosurie erzeugenden Blutzuckerniveaus zunimmt. Während nämlich bei dem Diabetiker, dessen Erkrankung erst seit kurzer Zeit besteht, jede Erhöhung des Blutzuckerspiegels über den Wert von 0,1% von Glucosurie gefolgt ist, die binnen kurzer Zeit den überschüssigen Blutzucker zur Ausscheidung bringt, wird in älteren Fällen oft noch tage- und wochenlang nach Verschwinden des Zuckers aus dem Harn der Zuckergehalt des Blutes erhöht gefunden; die „äußere Toleranz" wird offenbar durch die Dauer der Erkrankung beeinflußt.

Besonders groß wird das Mißverhältnis zwischen Blut- und Harnzuckermenge im Coma diabeticum gefunden, ferner in Diabetesfällen, die mit Morbus Brighti kompliziert sind. Liefmann und Stern konnten in solchen Fällen die Befunde von Naunyn[2]),

---

[1]) E. Liefmann und B. Stern, Über Glykämie und Glykosurie. Diese Zeitschr. 1, 299, 1906.

[2]) B. Naunyn, Der Diabetes mellitus. Wien 1898.

Achard und Weil[1]), Lepine[2]) bestätigen [vgl. Hollinger[3])]. In keiner dieser Untersuchungen finden sich Angaben über die Höhe des Blutzuckerwertes bei unkomplizierten Nephritiden, und es bleibt daher die Rolle, die der Nierenerkrankung in jenen kombinierten Krankheitsbildern zufällt, ganz ungeklärt. Eine Untersuchung reiner Fälle von Nephritis hinsichtlich ihres Blutzuckerwertes erscheint zudem noch von Interesse wegen der in den letzten Jahren wahrscheinlich gemachten Beziehungen zwischen den Erkrankungen der Niere zu einer veränderten Nebennierenfunktion. Veränderungen der Gefäßwände, das Auftreten hohen Blutdrucks bei gewissen Nierenkrankheiten ließen vor allem an solche Beziehungen denken; tatsächlich konnten Wiesel[4]) und Schur und Wiesel[5]) in Fällen von Nephritis mit hohem Blutdruck eine Hypertrophie der chromaffinen Substanz und schließlich mit biologischer und chemischer Methode Adrenalinämie nachweisen. Von dem Gesichtspunkte aus, daß Blutdrucksteigerung und Hyperglykämie in gleicher Weise (wenn auch nicht immer vereint) als Folgen experimenteller Adrenalinämie auftreten, konnten die Blutzuckerbefunde bei Nephritis für oder gegen die Annahme einer Funktionsänderung der Nebennieren eine Stütze bieten.

Es wurden daher Blutzuckerbestimmungen an einer größeren Anzahl von Nephritikern ausgeführt; die Befunde sind in der folgenden Tabelle mit den wichtigsten Punkten aus Anamnese und Status zusammengefaßt. Das Blut wurde dem ruhenden, nüchternen, fieberfreien Patienten aus einer Armvene durch eine Hohlnadel entnommen, in einer 2%igen Lösung von Kalium oxalicum aufgefangen, nach Schenk enteiweißt und der Zucker aus den durch Reduktion nach Pflüger-Allihn erhaltenen und gewogenen Kupferoxydulmengen bestimmt.[6])

---

[1]) Achard und Weil, Impermeabilité rénale et hyperglycémie dans le diabète. Soc. med. des hop. 1898, 29.

[2]) R. Lépine, Revue de médecine, Okt. 1897. Zit. nach Achard und Weil.

[3]) Hollinger, diese Zeitschr. 17, 1, 1909.

[4]) Wiesel, Verhdl. d. Kongr. f. inn. Med. 1907, 222.

[5]) Schur und Wiesel, Wiener klin. Wochenschr. 1907, 690 und 1202.

[6]) Herrn Dr. S. Bondi, Assistent der 1. med. Abteilung des allg. Krankenhauses in Wien, danke ich auch an dieser Stelle bestens für die Überlassung des Venaesectio-Blutes dreier Fälle.

Tabelle I.

Nephritiker mit zuckerfreiem Harn.

Name und Diagnose	Blutdruck nach Gärtner	Blutzucker	Harn	Anamnese und Status
1. K. St., Steinmetzpolier, 40 J., 17. III. 09. Nephritis interstit. arteriosclerot. Haemorrh. cerebri.	230	0,1947		Bewußtlosigkeit, Parese der linken Körperhälfte, Deviation conjugée nach rechts. Herzhypertrophie. Exitus 18. III.
2. Z. W., Anstreicher, 37 J., 8. VII. 09. Nephritis chron.	210	0,0899	1 ‰ Eiweiß. Harnmenge 1800 ccm. Spez. Gew. 1014. Im Sediment Leukocyten, wenige hyaline u. granulierte Cylinder.	In der Kindheit Scarlatina mit Nephritis. Hypertrophie des linken Ventrikels. Retinitis albuminurica. Wassermann negativ.
3. P., 25 J., 1. IV. 09. Sekundäre Schrumpfniere, Urämie.	210	0,2108		Obduktionsbefund: Parenchymat. Nephritis mit Ausgang in Schrumpfung, Herzhypertrophie. Nebennierenrindenadenom.
4. B. K., Bindermeister, 65 J., 21. XII. 08. Nephritis interstit. chron. arteriosclerot.	195	0,1784	Ca. 1 ‰ Eiweiß; Nucleoalbumin 0. Harnmenge 1200 ccm. Spez. Gew. 1014. Im Sediment spärliche kurze granulierte Cylinder.	Vor 38 Jahren Malaria. Seit einem Jahre Atemnot, Herzklopfen, Ödeme an den Beinen, Alkoholismus mäßigen Grades. Herzhypertrophie: Spitzenstoß im 6. Intercostalraum in d. v. Axillarlinie. Extrasystolen. Obduktion: 9. V. 09.
5. H. H., Gastwirt, 46 J., 2. V. 09. Nephritis interstit. chron.	190	0,1645	Ca. 1 ‰ Eiweiß; kein Nucleoalbumin. Harnmenge 2000 ccm. Spez. Gew. 1014. Im Sediment sehr spärliche hyaline und granulierte Cylinder.	Vor $^3/_4$ Jahren Beginn mit Neuritis optica, dann Angina pectoris-artige Anfälle. Pupillen träge reagierend, entrundet, ungleich weit. Herzhypertrophie, Extrasystolen; periphere Arterien rigide. Spez. Gew. des Blutes 1059, des Serums 1026; keine alimentäre Glucosurie, Froschaugenreaktion positiv.

Tabelle I (Fortsetzung).

Name und Diagnose	Blutdruck nach Gärtner	Blutzucker	Harn	Anamnese und Status
6. P.M., Diurnist, 24. II. 09. Nephritis parenchym. subacuta haemorrh., Urämie.	180	0,0837	Ca. 10‰ Eiweiß. Harnmenge 1000 ccm. Spez. Gew. 1010. Im Sediment rote und weiße Blutkörperchen, hyaline und Leukocytencylinder.	Seit 5 Wochen Schmerzen in der Nierengegend, Schwellung des Gesichts, Verschlechterung des Sehvermögens. Hypertrophie des linken Herzens, Retinitis albuminurica. Obduktion: 7. III. Subak. parenchymat. Schrumpfniere mit akutem Nachschub.
7. J.S., Gerichtskanzlist, 34 J., 30. III. 09. Nephritis chron. interstit.	180	0,0791	Spuren Eiweiß vorhanden. Harnmenge 1500 ccm. Spez. Gew. 1013. Im Sediment Leukocyten, granulierte Cylinder.	Alkohol- und Nicotinabusus. Seit 5 Jahren Kopfschmerzen, seit 3 Monaten Netzhautblutungen. Herzhypertrophie, Retinitis albuminurica.
8. W. J., 62 J., 16. V. 09. Nephritis chron. interstit. arteriosclerot.	170	0,1208	Ca. $^3/_4$‰ Eiweiß, kein Nucleoalbumin. Harnmenge 2600 ccm. Spez. Gew. 1012. Im Sediment zahlreiche feingranulierte Cylinder, Epithelien, Leukocyten.	Seit $^1/_2$ Jahre Ödeme, Kurzatmigkeit, Abmagerung, Alkoholismus. Leichte Cyanose, Knöchelödem, rigide Gefäße, Arrhythmien. Pupillendifferenz, Wassermann negativ. Retinitis albuminurica. Spez. Gew. des Blutes 1054, des Serums 1024. Keine alimentäre Glucosurie.
9. B.J., Taglöhner, 25 J., 7. X. 09. Nephritis chron. par. et interstit. Aorteninsuff., fibrinöse Perikarditis.	160	0,1329	Ca. $^1/_2$‰ Eiweiß. Harnmenge 1200 ccm. Spez. Gew. 1012. Im Sediment Leukocyten, Epithelien, wenige granulierte Cylinder.	Seit 8 Jahren oft Kopfschmerzen. Vor 5 Monaten fieberhafte Krankheit mit Atemnot und Herzklopfen. Leichte Cyanose, Malleolarödem. Periphere Arterien rigide, Puls dikrot. Herzyhypertrophie, Aorteninsuffizienzgeräusch. Retinitis albuminurica. Wassermann negativ. Obduktion: 25. XI.

Tabelle I (Fortsetzung).

Name und Diagnose	Blutdruck nach Gärtner	Blutzucker	Harn	Anamnese und Status
10. Wa., Bäckergehilfe, 19 J., 14. IV. 09. Nephritis parenchym.	155	0,1032	Ca. 9 ‰ Eiweiß. Harnmenge 1100 ccm. Spez. Gew. 1014. Im Sediment rote und weiße Blutkörperchen, granulierte Cylinder.	Vor 3 Monaten Schwellung des Gesichtes und der Füße; Brennen beim Harnlassen.
11. Su., 3. II. 09. Nephritis chron. interstit.	150	0,1194		Seit 3 Jahren Nephritis, Furunculosis.
12. N., 23. II. 09. Nephritis chron.	150	0,1152	Spur Eiweiß, spärliches Sediment, Cylinder	
13. W., 24. II. 09. Nephritis chron. interstit.	150	0,1087		
14. C. L., Hausbesorgerin, 34 J., 29. II. 09. Nephritis chron. interstit.	140	0,1042	Ca. 6 ‰ Eiweiß. Harnmenge 2400 ccm. Spez. Gew. 1011. Im Sediment weiße u. rote Blutkörperch.	Beginn der Erkrankung vor 3 Monaten. Geringgradige Verbreiterung des Herzens nach links. Serum stark getrübt.
15. K., Glasarbeiter, 52 J., 22. I. 09. Nephritis subac. parenchym.	120	0,1051	Ca. $^1/_2$ ‰ Eiweiß. Harnmenge 2000 ccm. Spez. Gew. 1012. Im Sediment Leukocyten, Epithelien, granul. Cylinder.	Wiederholt Gelenkrheumatismus, Alkoholismus.
16. St. Th., Private, 51 J., 7. V. 09. Nephritis.par.chron.	80	0,0968	Ca. 8 ‰ Eiweiß. Harnmenge 1200 ccm. Spez. Gew. 1025. Im Sediment granulierte Cylinder.	Beginn vor 4 Monaten mit Ödemen an den Füßen. Wassermann negativ.
17. M. F., Spinnereiarbeiter, 38 J., 10. II. 09. Nephritis subacuta.	80	0,0872	Ca. 2 ‰ Eiweiß, Nucleoalbumin vorhanden. Harnmenge 1500 ccm. Spez. Gew. 1012. Im Sediment Leukocyten, granulierte Zylinder, wenige Erythrocyten.	Beginn vor 3 Monaten.

Tabelle I (Fortsetzung).

Name und Diagnose	Blutdruck nach Gärtner	Blutzucker	Harn	Anamnese und Status
18. Han., Retoucheurin, 19. XII. 08. Cystitis, Pyelonephritis ren. utr.	80	0,0796	Ca. $^1/_2$‰ Eiweiß, alkalisch, Harn durch Eiter getrübt, Menge 2100 ccm. Spez. Gew. 1010.	Cessatio mensium im 28. Lebensjahr; seit 6 Jahren trüber Harn, kontinuierliche, anfallsweise verstärkte Schmerzen in der Nierengegend.
22. XII. 08. 1 Stunde nach 100 g Dextrose.	85	0,1412	Harn der nächsten 12 Stunden (in 4stündigen Teilportionen untersucht) zuckerfrei.	Nach Phlorizin kein Zucker im Harn.

Die in Tabelle I zusammengestellten Bestimmungen ergeben hohe Werte für den Gehalt des Blutes an reduzierender Substanz in einem großen Teil der untersuchten Fälle von Nephritis mit hohem Blutdruck; daß diese reduzierende Substanz im wesentlichen Traubenzucker ist, geht aus einigen Parallelbestimmungen durch Polarisation hervor trotz der dieser Methode bei Auswertung so geringer Zuckerwerte eigenen Fehlerquellen. Die höchsten Blutzuckerwerte finden sich bei den höchsten Druckwerten; dagegen ist eine Beziehung der Höhe des Blutzuckergehaltes zur Menge und Konzentration des Harnes oder zur Menge des ausgeschiedenen Eiweißes nicht erkennbar.

Die Nephritiker mit hohem Blutdruck und hohem Blutzuckerwert verhalten sich also ganz ähnlich jenen Diabetikern, deren Glucosurie durch einen Morbus Brighti eingedämmt wird, während der Blutzuckerspiegel hochbleibt. (Siehe v. Noorden, Handb. d. Pathol. d. Stoffw. 1, 1040 und 2, 3). Nun konnte ich auch Fälle von Diabetes mit Nephritis beobachten, die bei konstanter Diät wochenlang zuckerfrei blieben und dennoch Hyperglykämie aufwiesen (Tab. II). Diese Diabetiker unterscheiden sich von jenen Nephritikern eigentlich nur dadurch, daß letztere keine alimentäre Glucosurie zeigen (Tab. I, Fall 5 und 8), während erstere schon bei mäßiger Steigerung des Kohlenhydratwertes der Nahrung mit Glucosurie reagieren, so

zwar, daß die Vorschrift Faltas[1]) wohl berechtigt erscheint, in diesen Fällen mit Zuckerzulagen sehr behutsam vorzugehen.

Tabelle II.

Diabetes kombiniert mit Nephritis.

Name	Blut-zucker	Harn	Anamnese und Status
Dav., 13. XI. 08.	0,1309	Zucker weniger als 0,1% Eiweiß „ „ ½‰	
K., Privatier, 56 J., 1. XII. 07. Nephr. chron. Myodegeneratio. Diab. mellitus.	0,3578	Der unmittelbar vor der Venaesectio gelassene Harn ist zuckerfrei; 5‰ Eiweiß. Tagesmenge 1200 ccm. Spez. Gew. 1014. Zucker im 24h-Harn 2,3 g. Im Sediment hyaline und granulierte Cylinder.	Vor 4 Jahren Beginn des Diabetes und der Nephritis; bis vor 4 Wochen befand sich Patient bei gemischter Kost völlig wohl. Seit 4 Wochen Anfälle von Angina pectoris. Herzhypertrophie. Pulsarrythmie. Blutdruck (Gärtner) 210.
9. I. 08.	0,1246	Seit 23 Tagen zuckerfrei; am 19. Tage 3 g Zucker im Harn. Harnmenge 1000 ccm. Spez. Gew. 1017. Eiweiß ca. 11‰.	
L. R., Bildhauer, 53 J., 15. II. 09. Diab. mell. Arteriosklerose.	0,1162	Seit 3 Wochen zuckerfrei, vor 14 Tagen vorübergehend geringe Zuckermengen im Harn. Harnmenge 2500 ccm. Spez. Gew. 1013. Minimale Eiweißmengen. Kein Sediment.	Seit 9 Jahren Zucker, seit 4 Jahren Eiweiß im Harn. Furunculosis. Retinitis haemorrhagica.

Die angeführten Befunde und die Beobachtungen von Liefmann und Stern über die zunehmende Zuckerdichtheit der Nieren im Verlaufe eines Diabetes mellitus ohne sonstige wahrnehmbare Veränderung der Nierenfunktion lassen daran denken, ob nicht auch Fälle, die beim Diabetes häufig vorkommende Symptome ohne Glucosurie zeigen, echte Diabetesfälle seien, nur maskiert durch das Unvermögen der Niere, den überschüssigen Zucker auszuscheiden. Der Befund von Hyper-

[1]) W. Falta, Die Therapie des Diabetes mellitus. Erg. d. inn. Med. u. Kinderheilk. 2, 74, 1908.

glykämie könnte Fälle mit Furunculose, mit Haar- und Zahnausfall besonders bei Personen, in deren Ascendenz Diabetes vorkommt, aufklären. Von diesem Gesichtspunkte aus wurden die folgenden drei Fälle untersucht.

Pat. S. leidet seit Jahren an Furunculose. Trotz wiederholter Untersuchung bei kohlenhydratreicher Kost wurde kein Zucker im Harn gefunden.

Blutzuckerwert 0,057.

2. Bestimmung einige Wochen später 0,051.

Pat. D. S. ist Diabetiker, leidet an Furunculose; zur Zeit der Untersuchung ist Pat. zuckerfrei.

Blutzuckerwert 0,1067.

Pat. N. aus einer Diabetikerfamilie stammend, zeigt bei völlig zuckerfreiem Harn und normaler Toleranz Ausfall ganz gesunder Zähne.

Blutzuckerwert 0,0784.

Die Krankheitserscheinungen der angeführten Fälle lassen sich also nicht auf Hyperglykämie zurückführen; im ersten Fall ergaben sich sogar abnorm niedere Werte.

Das wichtigste Ergebnis vorstehender Versuche ist der Befund von Hyperglykämie bei Nephritikern ohne Glucosurie. Daß die Hyperglykämie nicht zu Glucosurie führt, ist merkwürdig und zeigt, wie die Untersuchung des Blutes Störungen im Kohlenhydrathaushalt aufdecken kann, die sonst verborgen bleiben. Es ist die Tatsache aber nicht ohne Analogie; hierher gehört die Erscheinung, daß, wie eingangs erwähnt, der Blutzucker bei lange bestehendem Diabetes viele Tage nach der Entzuckerung erhöht sein kann; ferner hat L. Pollak[1]) in einer Arbeit aus dem pharmakologischen Institut in Wien den interessanten Befund mitgeteilt, daß bei Kaninchen, die infolge von Adrenalingewöhnung nach Adrenalininjektionen keine Glucosurie zeigten, trotz ungestörter Diurese Blutzuckerwerte bis 0,4% vorkommen. Die gleiche Erscheinung, Hyperglykämie ohne Glucosurie, verbunden mit Albuminurie und Blutdrucksteigerung, konnte ich schließlich durch Kompression der Bauchaorta in Nierenhöhe bei Kaninchen erzielen.

15. V. 09. Kaninchen 2700 g.

9^h vorm. Aderlaß aus der Carotis; 14,5 ccm Blut, Zuckergehalt 0,1775%.

---

[1]) L. Pollak, Experimentelle Studien über Adrenalindiabetes. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 149, 1909.

3^{30} nachm. und 3^{37} Kompression der Bauchaorta durch je 5 Minuten.

Aderlaß; 27 ccm Blut, Zuckergehalt 0,2062%.

Im Harn nach der Kompression Eiweiß, kein Zucker.

17. V. 09. Kaninchen 2700 g.

9^{h} vorm. Aderlaß aus der Carotis; 22,3 ccm Blut, Zuckergehalt 0,1467%.

3^{30} und 3^{37} nachm. Kompression der Bauchaorta durch je 5 Minuten.

Aderlaß; 14,7 ccm Blut, Zuckergehalt 0,2342%.

Im Harn nach der Kompression Eiweiß, kein Zucker.

In allen diesen Zuständen deutet das Syndrom Hyperglykämie ohne Glucosurie (oft verbunden mit Albuminurie) auf eine durch Gewöhnung oder spezifische Beeinflussung erzeugte verminderte Durchlässigkeit der Niere für Zucker.[1])

Wie kommt nun die bei Nephritis beobachtete Hyperglykämie zustande? Es besteht zunächst die Möglichkeit, daß der vermehrte Blutzuckergehalt bei der nicht durch Diabetes komplizierten Nephritis eine direkte Folge der Nierenerkrankung ist; es könnte aber auch eine primäre oder eine der Nephritis koordinierte Störung des Kohlenhydratstoffwechsels vorliegen.

Für ein durch Nephritis bedingtes Zustandekommen der Hyperglykämie spricht zunächst anscheinend die Tatsache, daß

---

[1]) Dafür, daß durch eine Nierenerkrankung das Nierenfilter für Zucker dichter werden kann, spricht auch folgender Befund. Eine Patientin (Tab. I, 18) mit Pyelonephritis hatte bei gemischter Kost zuckerfreien Harn und normalen Blutzuckerwert 0,0796% bei einem Blutdruck von 80 (Gärtner). Als sie nun zur Prüfung auf alimentäre Glucosurie nüchtern 100 g Dextrose erhielt, trat kein Zucker im Harn auf, dagegen war der Blutzucker 1 Stunde nach dem Zuckerfrühstück auf 0,1412% gestiegen. Ein Nierengesunder hätte bei diesem Blutzuckerwert wohl mit Glucosurie reagiert (vgl. den Fall von Liefmann und Stern mit alimentärer Glucosurie und die Versuche von v. Brassol an Hunden. Du Bois Reymonds Arch. f. Phys. 1884, 211).

Ein Dichterwerden des Nierenfilters könnte auch therapeutische Erfolge vortäuschen, sofern man diese aus der Größe der Zuckerausscheidung bei konstanter Diät erschließt; so zeigte ein Patient, der erst seit 3 Wochen an Diabetes litt, 14 Tage nach der Entzuckerung bei fortgesetzter Aspirinanwendung (3 g pro die) den hohen Blutzuckerwert von 0,18%; die Aspirinwirkung beim Diabetes, die nur bei geringgradigen Glucosurien und bei Verwendung großer Aspirindosen erkennbar ist (Kaufmann, Zeitschr. f. klin. Med. 48, 260, 1903), könnte durch die Nierenwirkung der Salicylpräparate ihre Erklärung finden.

gewisse Gifte, die Nephritis erzeugen, auch zu einer Störung des Kohlenhydrathaushaltes führen (Uran, Chrom, Sublimat); es ist nun aber ausgeschlossen, daß in diesen Fällen die Stoffwechselstörung durch die Nephritis bedingt ist; denn Fleckseder[1]) konnte zeigen, daß die Hyperglykämie bei uranvergifteten Tieren auch nach Nierenexstirpation zustande kommt.

Weiter würden die Versuche von Rose[2]) vielleicht dafür sprechen, daß ein Ausfall der Nierenfunktion zu Hyperglykämie führt. Rose beobachtete nämlich nach doppelseitiger Nierenexstirpation Blutzuckerwerte bis zu 0,299%, freilich bereits $1^1/_4$ Stunden nach der Exstirpation, so daß der Operationschok, die Narkose, die Eröffnung der Bauchhöhle, der Blutverlust als ursächliche Momente nicht auszuschließen sind. Zur Klärung dieser Frage machte ich daher einige Bestimmungen an Kaninchen, und zwar vor und längere Zeit nach der Nierenexstirpation.

Versuch 1. Kaninchen 2000 g.

8. IV. 09, 11^h vorm. Aderlaß aus der Carotis, 24 ccm Blut. Zuckergehalt 0,1554%. Exstirpation beider Nieren.

11^h nachm. Aderlaß, 24,3 ccm Blut. Zuckergehalt 0,1218%. Das Tier ist noch recht lebhaft.

Versuch 2. Kaninchen 1500 g.

3. V. 09, 7^h nachm. Aderlaß, 23,2 ccm Blut. Zuckergehalt 0,1575%. Exstirpation beider Nieren.

6. V. 7^h vorm. Aderlaß, 15 ccm Blut. Zuckergehalt 0,1518%.

Versuch 3. Kaninchen 2000 g.

3. IV. 09, 11^h vorm. Aderlaß, 23 ccm Blut. Zuckergehalt 0,1456%. Exstirpation einer Niere.

6. IV. 7^h vorm. Exstirpation der zweiten Niere.

4^h nachm. Aderlaß, 20,5 ccm Blut. Zuckergehalt 0,1390%.

Die Versuche ergeben keine Erhöhung, eher sogar eine geringe Herabsetzung des Blutzuckerwertes nach Nierenexstirpation.

Es liegt somit keine Tatsache vor, die dafür sprechen würde, daß Nierenschädigung bzw. Ausfall der Nierenfunktion zu Hyperglykämie führt. Man muß demnach wohl annehmen, daß bei den Nephritisfällen mit Hyperglykämie der Blutzuckerregulationsvorgang ohne direkte Abhängigkeit

[1]) Fleckseder, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 56, 64, 1907.

[2]) Rose, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 50, 15, 1903.

von der Niere gestört ist, in dem Sinne, daß es noch zu Zuckerabgabe in das Blut kommt, wenn die normale Zuckerschwelle nach oben überschritten ist. Nun zeigt die chronische Adrenalinvergiftung (s. L. Pollak, l. c.) in ihrem Symptomenkomplex große Ähnlichkeit mit der von Hyperglykämie begleiteten Hochdrucknephritis (Hyperglykämie bei zuckerfreiem Harn, Blutdrucksteigerung, Arteriosklerose, Albuminurie)[1]; dies und die eingangs erwähnten Befunde von Schur und Wiesel, die Angaben von v. Neußers[2]) über Fälle von Nebennierentumoren, die bei intakt gefundenen Nieren unter dem Bilde eines chronischen Morbus Brighti mit gespanntem Puls verliefen und durch Hirnhämorrhagien zum Tode führten, ferner die jüngst von O. Porges[3]) beobachtete Hypoglykämie bei Morbus Addison und bei nebennierenlosen Hunden sprechen wohl dafür, daß die bei Hochdrucknephritis vorkommende Hyperglykämie mit einer veränderten Nebennierenfunktion in Beziehung steht. Die Tatsache, daß Hyperglykämie und Blutdrucksteigerung nicht immer vereint vorkommen, widerspricht dieser Annahme nicht; denn auch im Experiment tritt unter verschiedenen Bedingungen (z. B. je nach der Applikationsart) bald die eine, bald die andere Wirkung stärker hervor.

In gewissem Maße erinnert auch der in Schrumpfniere übergehende Diabetes an die chronische Adrenalinvergiftung: anfänglich Hyperglykämie und Glucosurie, dann Hyperglykämie ohne Zucker im Harn, Gefäßwandveränderungen und Blutdrucksteigerung. Ob nun, wie manche Forscher meinen, der Diabetes bzw. die Hyperglykämie Ursache der Schrumpfniere und der Arteriosklerose ist [nach v. Noorden[4]) finden sich arteriosklerotische Veränderungen in 40% aller Diabetesfälle] oder ob, wie andere annehmen, die Arteriosklerose (z. B. der Pankreas-

[1]) Auch die Kompression der Bauchaorta von Kaninchen in Nierenhöhe erzeugt nach meinen Versuchen (s. S. 291) Hyperglykämie ohne Glucosurie und Albuminurie; Biedl und Braun (Wiener klin. Wochenschr. 1909, 709) und Henwood Harley (Virchows Archiv 196) konnten durch wiederholte Kompression der Bauchaorta außer Blutdrucksteigerung auch arteriosklerotische Veränderungen erzeugen.

[2]) v. Neußer, Die Krankheiten der Nebennieren. Nothnagels Handb. 18, III, 70, Wien 1897.

[3]) O. Porges, Zeitschr. f. klin. Med. 69, 341, 1909.

[4]) v. Noorden, Die Zuckerkrankheit, 4. Aufl., 1907.

arterien) als das primäre Moment in Betracht kommt [Naunyn[1]), Edgren[2]) Grube[3]) Fleiner[4])], oder ob schließlich beide Symptomenkomplexe Folgen einer gemeinsamen, ursächlichen Störung sind, die eine Überfunktion der Nebennieren herbeiführt, muß zunächst wohl unentschieden bleiben.[5])

[1]) Naunyn, l. c.

[2]) Edgren, Die Arteriosklerose. Leipzig 1898.

[3]) Grube, Zeitschr. f. klin. Med. 17, 465, 1895.

[4]) Fleiner, Berl. klin. Wochenschr. 1894, 5.

[5]) S. a. Falta, Zeitschr. f. klin. Med. 66, 1908 u. Eppinger, Falta und Rudinger, Zeitschr. f. klin. Med. 66, 1908.

Untersuchungen über den Purinstoffwechsel.

II. Mitteilung.

Über das Harnsäurezerstörungsvermögen der Organe von Scyllium catulus: Milz, Nieren, Wolffscher Körper, Magen, Darm.

Von

Vittorio Scaffidi.

(Aus der physiologischen und der chemischen Abteilung der zoologischen Station in Neapel.)

(Eingegangen am 21. März 1910.)

Die in den vorliegenden Untersuchungen angewandte Methode ist die von mir schon bei meinen Versuchen über das Harnsäurezerstörungsvermögen der Leber von Scyllium catulus benutzte.[1])

Die Harnsäurelösung wurde genau wie in den früheren Experimenten hergestellt, so daß sie ganz schwach alkalisch war und diese geringe Alkalescenz durch die leichte Acidität der Gewebe korrigiert wurde.

Wie in den früheren, ging also auch in diesen Versuchen die Uricolyse bei fast neutraler Reaktion vor sich. Die Temperatur des Thermostaten schwankte bei den verschiedenen Experimenten zwischen 38° und 39° C. Die am Schluß der Versuche wiedergewonnene Harnsäure wurde stets nach der Methode von Horbaczewski durch Lösen in reiner Schwefelsäure gereinigt.

Versuch 1.

Muskeln. 200 g Brei von Muskeln aus Rücken und Bauchwand von 4 Scyllien wurden in 2 gleiche Teile geteilt und jeder Portion 100 ccm Chloroformwasser und 0,1 g Harnsäure in 40 ccm Lösung zugesetzt.

Resultat:

a) 1. Portion: $1^1/_4$ Stunde im Thermostaten bei 38° unter Sauerstoffdurchleitung gehalten: von den 0,1 g Harnsäure wurden 0,0824 g wiedergefunden, 0,0186 g waren also zerstört worden.

b) 2. Portion: Nach $2^1/_2$stündigem Stehen im Thermostaten unter Sauerstoffdurchleitung wurden wiedererhalten 0,0714 g Harnsäure; zerstört waren mithin 0,0286 g.

---

[1]) V. Scaffidi, diese Zeitschr. 18, 1909.

Versuch 2.

Muskeln. Es wurden, wie oben, Muskeln von 5 Scyllien verwandt, die fein zerkleinert wurden: 200 g des Breies wurden genau in 2 Teile à 100 g geteilt und jeder der beiden Portionen wurde, wie im vorhergehenden Experimente, 100 ccm Chloroformwasser und 0,1 g in 40 ccm Flüssigkeit gelöster Harnsäure zugesetzt.

Resultat:

a) 1. Portion: Nach 3stündigem Verweilen im Thermostaten unter Sauerstoffdurchströmung fanden sich wieder 0,07 g Harnsäure, 0,03 g waren zerstört worden.

b) 2. Portion: Nach 5stündigem Stehen im Thermostaten bei 38° C unter Sauerstoffdurchleitung wiedergewonnen 0,0432 g Harnsäure; zerstört demnach 0,0568 g.

Versuch 3.

Milz. Aus den Milzen dreier Scyllien werden 25 g Brei gewonnen, denen 50 ccm Chloroformwasser und 0,05 g in 20 ccm Flüssigkeit gelöster Harnsäure zugesetzt werden. Das Gemenge kommt für $1^1/_2$ Stunden unter Sauerstoffdurchleitung in den Thermostaten bei 39° C.

Resultat:

Von den angewandten 0,05 g Harnsäure finden sich wieder 0,0481 g, es fehlen demnach 0,0019 g.

Versuch 4.

Milz. Dem aus 3 Scylliummilzen erhaltenen Brei (Gewicht 45 g) werden 50 ccm Cloroformwasser und 0,05 g Harnsäure, in 20 ccm Flüssigkeit gelöst, zugefügt. Die Mischung bleibt 3 Stunden im Thermostaten bei 39° C unter Sauerstoffdurchströmung.

Resultat:

Von den zugesetzten 0,05 g Harnsäure werden wiedergewonnen 0,0487 g, es fehlen 0,0013 g.

Versuch 5.

Nieren. Die Nieren von 5 weiblichen Scyllien werden zerkleinert und zu 25 g der Substanz 40 ccm Chloroformwasser + 0,05 g gelöster Harnsäure zugesetzt. Sauerstoffdurchleitung. Digestionsdauer 3 Stunden.

Resultat:

Verwandte Harnsäure . . . 0,05 g,
Wiedergefundene Harnsäure 0,0156 g,
Zerstörte Harnsäure . . . . 0,0344 g.

Versuch 6.

Nieren. Die Nieren von 3 weiblichen Scyllien werden zerkleinert und zu 21 g Brei 40 ccm Chloroformwasser + 0,05 g gelöster Harnsäure zugesetzt. Das Gemenge bleibt für $3^1/_2$ Stunden im Thermostaten bei 39° C und Sauerstoffdurchlüftung.

Resultat:

Angewandte Harnsäure . . . 0,05 g,
Zurückgewonnene Harnsäure . 0,03 g,
Zerstörte Harnsäure . . . . . 0,02 g.

Versuch 7.

Wolffscher Körper. Die oberen Teile von 6 Wolffschen Körpern dreier Scyllien werden zerkleinert und zu 25 g des Breies 40 ccm Chloroformwasser + 0,05 g gelöster Harnsäure zugefügt. Das Gemisch steht $2^1/_2$ Stunden im Thermostaten bei 38° C unter Sauerstoffdurchströmung.

Resultat:

Nach $2^1/_2$ stündiger Digestion finden sich von den 0,05 g zugesetzter Harnsäure 0,0495 g; es fehlen somit nur 0,0005 g.

Versuch 8.

Wolffscher Körper. 18 g Brei aus den oberen Teilen der Wolffschen Körper von 2 Scyllien werden mit 25 ccm Chloroformwasser + 0,05 g gelöster Harnsäure versetzt und für 3 Stunden bei Sauerstoffdurchleitung in den Thermostaten gestellt.

Resultat:

Von 0,05 g zugesetzter Harnsäure werden 0,0488 g wiedererhalten, 0,0012 g gehen ab.

Versuch 9.

Magen. Die Magen von 4 Scyllien (Muskelschicht und Schleimhaut zusammen) werden zerrieben und der Brei in 2 Portionen à 43 g geteilt; jedem werden 50 ccm Chloroformwasser + 0,05 g gelöster Harnsäure zugesetzt. Beide Portion kommen in den Thermostaten bei 39° C unter Sauerstoffzuleitung.

Resultat:

a) 1. Portion: Nach $1^1/_2$ stündigem Stehen im Thermostaten finden sich 0,0374 g Harnsäure, zerstört waren also 0,0124 g.

b) 2. Portion: Die Digestion wird nach 3 Stunden abgebrochen. Es werden zurückgewonnen 0,0278 g, zerstört demnach 0,0222 g Harnsäure.

Versuch 10.

Magen. Aus dem Brei der in toto zerkleinerten Magen von 5 Scyllien werden 2 Teile, a) und b), gemacht, jeder zu 55 g. Portion a) wird 30 Minuten lang gekocht und nach dem Erkalten zusammen mit Portion b) in den Thermostaten (39° C) gestellt, nachdem jeder Portion 100 ccm Chloroformwasser + 0,05 g gelöster Harnsäure zugesetzt worden war. Beide Teile blieben unter Sauerstoffdurchleitung für $3^1/_2$ Stunden im Thermostaten.

Resultat:

a) (Gekochte Portion): Von den zugesetzten 0,05 g Harnsäure finden sich wieder 0,0491 g, bloß 0,0009 g fehlen also.

b) (Ungekochte Portion): Es werden von 0,05 g zugefügter Harnsäure 0,0138 g wiedererhalten, 0,0362 g sind mithin zerstört.

Versuch 11.

Darm. Die Därme (Muskelschicht + Schleimhaut) werden fein zerrieben und der Brei in 2 Portion, a) und b), zu je 37 g geteilt. Beiden Portionen werden 50 ccm Chloroformwasser und 20 ccm Harnsäurelösung mit 0,05 g Substanz zugesetzt; sodann kommen sie für $1^1/_2$ resp. 3 Stunden in den Thermostaten bei 39° C unter Sauerstoffzuleitung.

Resultat:

a) 1. Portion: $1^1/_2$ Stunden im Thermostaten gehalten: von den 0,05 g zugefügter Harnsäure werden 0,0382 g zurückgewonnen; zerstört sonach 0,0118 g.

b) 2. Portion: Nach 3stündiger Digestion im Thermostaten finden sich 0,0253 g Harnsäure, es sind also zerstört 0,0247 g.

Versuch 12.

Darm. Die Därme von 5 Scyllien werden zerkleinert und aus dem Brei 2 Portionen, a) und b), zu je 45 g hergestellt. Portion a) wird 30 Minuten lang gekocht und nach dem Erkalten mit Portion b) in den Thermostaten (39° C) gebracht, und dann durch beide Proben Sauerstoff durchgeleitet. Jeder Portion werden 50 ccm Chloroformwasser + 0,05 g Harnsäure in Lösung zugefügt.

Resultat:

a) (Gekochte Portion): Von den zugesetzten 0,05 g Harnsäure finden sich wieder 0,0486 g, es fehlen 0,0014 g.

b) (Ungekochte Portion): Zurückgewonnen werden von 0,05 g beigefügter Harnsäure 0,0214 g, zerstört sind demnach 0,0286 g.

In der folgenden Tabelle sind die in den verschiedenen Experimenten erhaltenen Werte zusammengestellt:

Tabelle.

Versuchs-Nummer	Organ	Menge des Organbreies g	Menge der zugefügt. Harnsäure g	Digestionsdauer St.	Wiedergefundene Harnsäure g	Verschwund. Harnsäure g
1	Muskeln (a)	100	0,1000	1,15′	0,0824	0,0176
	Muskeln (b)	100	0,1000	2,30′	0,0714	0,0286
2	Muskeln (a)	100	0,1000	3	0,0700	0,0300
	Muskeln (b)	100	0,1000	5	0,0432	0,0568
3	Milz	25	0,0500	1,30′	0,0481	0,0019
4	Milz	45,5	0,0500	2,30′	0,0487	0,0013
5	Nieren . . .	25	0,0500	3	0,0156	0,0344
6	Nieren . . .	21	0,0500	3,30′	0,0200	0,0300
7	Wolffscher Körper .	25	0,0500	2,30′	0,0495	0,0005
8	Wolffscher Körper .	18	0,0500	3	0,0488	0,0012
9	Magen (a)	43	0,0500	1,30′	0,0374	0,0124
	Magen (b)	43	0,0500	3	0,0278	0,0222
10	Magen (a)[1]	55	0,0500	3,30′	0,0491	0,0009
	Magen (b)	55	0,0500	3,30′	0,0138	0,0362
11	Darm (a)	37	0,0500	1,30′	0,0382	0,0118
	Darm (b)	37	0,0500	3	0,0253	0,0247
12	Darm (a)[1]	45	0,0500	3	0,0486	0,0014
	Darm (b)	45	0,0500	3,30′	0,0214	0,0286

[1]) Vor der Digestion 30 Minuten lang gekocht.

Aus diesen Versuchsresultaten ergibt sich:

1. daß von den untersuchten Organen die Milz und der Wolffsche Körper inaktiv sind,

2. daß die anderen Organe: Nieren, Magen, Darm und Muskelgewebe, zur Harnsäurezerstörung befähigt sind,

3. daß — was sich besonders aus Versuch 1 und 9 ergibt —, die Uricolyse wie bei der Leber nach dem Typus einer monomolekularen Reaktion zu verlaufen scheint,

4. daß es sich, nach den Resultaten der Versuche 10 und 12 zu schließen, wie bei der Leber um einen Fermentprozeß handelt, der nicht zustande kommen kann, wenn der benützte Organbrei zuvor gekocht wurde.

Über die Inaktivierung von Fermenten und die Entstehung von Antifermenten in Gegenwart von Kollodium- und anderen Membranen.

Von

A. E. Porter.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Edinburgh.)

(Eingegangen am 21. März 1910.)

In einer früheren Untersuchung in Gemeinschaft mit Fornet[1]) über die Dialyse kleiner Mengen von Serum gegen physiologische Kochsalzlösung durch Kollodium, Gelatine und Schilfsäckchen wurde ein auffallendes Verschwinden der opsonischen Wirkung beobachtet. Nach dem Dialysieren durch Kollodium zeigte das Serum sogar eine antiopsonische Wirkung. Die Schnelligkeit, mit der diese Veränderung vor sich ging, stieg mit der Kleinheit der gebrauchten Säckchen, das heißt also sie stieg mit der Größe der Oberfläche der Membran, die einer bestimmten Menge Serum dargeboten wurde. Ferner konnte eine antiopsonische Wirkung durch Erhitzen des Serums erhalten werden. Diese Erzeugung von Antiopsoninen zeigt eine gewisse Ähnlichkeit mit der von Bearn und Cramer[2]) beobachteten fermenthemmenden Wirkung, die auftritt, wenn

---

[1]) Fornet und Porter, Über den Bau der Opsonine, Centralbl. f. Bakt. 48, 461, 1908; Opsonine und Antiopsonine in ihrer Wirkung auf Tuberkelbazillen. Centralbl. f. Bakt. 51, 138, 1909.

[2]) Cramer und Bearn, The effect of heat on enzyme activity. Proc. Phys. Soc., June 1906; Journ. of Physiol. 34. — Bearn und Cramer, On Zymoids. Biochem. Journ. 2, 174, 1907.

man Fermentlösungen einer gelinden Wärme aussetzt. Um diese Analogie weiter zu verfolgen, habe ich die Wirkung von Kollodiummembranen auf eine Anzahl von Fermentlösungen studiert, nämlich: Pepsin, Trypsin Lab, Steapsin, Ptyalin, Emulsin und Takadiastase. Es wurde gefunden, daß alle diese Fermentlösungen, mit Ausnahme der Takadiastase, in Berührung mit einer Kollodiummembran ihre Fermentwirkung verlieren und mit Ausnahme des Ptyalins eine hemmende Wirkung erwerben.

Diese hemmende Wirkung wird im folgenden kurz als „Antiferment" (Antipepsin, Antitrypsin usw.) beschrieben werden. Ich möchte jedoch betonen, daß diese Bezeichnung nur das Vorhandensein einer hemmenden Wirkung ausdrücken soll. Es soll damit nicht gesagt sein, ob diese Hemmung auf das Vorhandensein eines echten Antiferments zurückzuführen ist oder ob es sich um die von Bearn und Cramer untersuchten „Zymoide" handelt, oder ob schließlich die Hemmung auf einen negativen Katalysten zurückzuführen ist.

Lösungen von Pepsin und Emulsin werden in 2 bis 3 Tagen unwirksam und hemmend. Die Hemmung ist am stärksten beim Pepsin und kann sogar vollständig sein. Die beiden Fermente, wie auch Lab, dialysieren teilweise durch Schilf, aber keines drang durch Kollodium. Sowohl reinere und weniger reinere Pepsinpräparate wurden dieser Behandlung unterworfen, und in allen wurde Antipepsin erzeugt. In den reineren Präparaten trat jedoch weniger Antipepsin auf.

Mercks Pepsin, das nach Weinland[1]) kein Antipepsin enthält, kann jedoch in dieser Weise antipeptisch gemacht werden. Z. B. wurde die Wirksamkeit eines Pepsinpräparates, das allein gleich 18,0 Teilen (nach Mett gemessen) war, durch eine gleiche Menge von Mercks Pepsin, das 4 Tage lang mit Kollodium in Berührung war, zu 11,25 herabgesetzt. Durch einen einfachen Magenextrakt, der auch 4 Tage lang mit Kollodium in Berührung war, wurde die peptische Wirksamkeit bis auf 0,75 geschwächt. Pepsin, das nach Weinlands Methode von Antipepsin befreit worden war, wurde ebenfalls in

[1]) Weinland, Über Antifermente. Zeitschr. f. Biol. 1902/03, Nr. 44, S. 45.

Berührung mit Kollodium unwirksam und hemmend. Nicht nur der Inhalt des Säckchens, sondern auch das Wasser resp. die verdünnte Säure außerhalb des Säckchens wurde hemmend, besonders wenn Kollodium verwendet wurde.

Lab und Ptyalin wurden in Berührung mit Kollodium in 2 Tagen unwirksam. Ptyalin wurde daher noch nicht hemmend gefunden. Das Verhalten des Labs war unregelmäßig.

Trypsin und Steapsin wurden in einigen Tagen unwirksam und hemmend.

Takadiastase blieb sogar nach 2 Monaten in Berührung mit Kollodium in Säckchen von der kleinsten Größe, die nicht mehr als 0,2 ccm enthielten, vollständig unbeeinflußt.

Wasser zieht aus Kollodium keine hemmende Substanz heraus. Ebensowenig war eine hemmende Fermentprobe aus Kollodium hemmend für andere Fermente als die eigenen, mit der Beschränkung, daß durch Kollodium inaktivierte Magenextrahte hemmend auf Pepsin, Trypsin und Lab wirkten.

Kollodium, Gelatine, Schilf und Eiereiweißmembranen wurden benutzt. Kollodium war am wirksamsten, Schilf am wenigsten. Es ist durchaus nötig, daß das Kollodium vollkommen durchsichtig ist. Wenn es schlecht gemacht, weiß und hart ist, greift es die Fermente nicht an.

Zur Erzeugung von Antifermenten ist es nicht nötig, die mit Fermentlösung beschickten Kollodiumsäckchen in Wasser zu tauchen, sondern man kann einfach das Kollodiumröhrchen oder Stücke von Kollodiummembranen in die Fermentlösung eintauchen.

Die Erklärung dieses Phänomens ist nicht ohne Schwierigkeiten. Da die reineren Präparate eine geringere Hemmung aufweisen, so erscheint es unwahrscheinlich, daß das Ferment selbst sich in ein Antiferment verwandelt.

Gegen die Möglichkeit einer einfachen Absorption spricht schon das Auftreten der hemmenden Wirkung. Ferner kann ein und dasselbe Kollodiumröhrchen wiederholt mit frischer Fermentlösung behandelt werden, ohne daß eine Andeutung von Sättigung erscheint. Im Gegenteil ist ein einige Male vorbehandeltes Säckchen wirksamer. Dieses Phänomen ist besonders deutlich bei Schilfsäckchen, die bei der ersten Behandlung mit Fermenten kaum inaktivieren.

Nach Abschluß meiner Versuche ist mir eine Arbeit von Slosse und Limbosch[1]) zu Gesicht gekommen, die vor kurzem erschienen ist. Diese Autoren haben das Verschwinden der Fermentwirkung bei der Dialyse durch Kollodium beobachtet und erklären diese Erscheinung durch Absorption. Meine frühere Arbeit mit Fornet über die Wirkung von Kollodium auf Serum scheint ihnen unbekannt geblieben zu sein. Das Auftreten der hemmenden Wirkung ist ihnen entgangen.

Eine ausführliche Veröffentlichung meiner Versuche wird bald an anderer Stelle erfolgen.

Herrn Dr. Cramer sage ich hiermit für seine Leitung und Anregung meinen besten Dank.

---

[1]) Slosse und Limbosch, Étude sur l'adsorption du ferment digestif par le collodion. Arch. intern. de Physiol. 8, 1909.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

XV. Mitteilung.

Untersuchungen über die Beziehungen zwischen physikalisch-chemischen Eigenschaften von Drüsenproteiden und dem Scheidevermögen der Drüsen.

Von

Theodor Karaúlow.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 24. März 1910.)

Die Beziehungen zwischen Eiweißkörpern und anorganischen Stoffen sind in den letzten Jahren Gegenstand sehr reger Arbeit geworden. Veranlassung hierzu waren einmal eine große Reihe von Erfahrungen, die gewonnen wurden, als man systematisch und auf Grund neuer, physikalisch-chemischer Gesichtspunkte den Einfluß studierte, den anorganische Stoffe auf die verschiedensten biologischen Prozesse haben können. Es sei hier nur unter anderem an die Arbeiten insbesondere von Loeb, sodann auch von Overton, Höber u. a. erinnert. Loeb hat die Annahme von Ionenproteiden in die Wissenschaft eingeführt und sehr beachtenswerte Stützen für diese Annahme beigebracht. Andererseits ist man auf Grund von direkten chemischen, beziehentlich physikalisch-chemischen Versuchen an Eiweißkörpern gleichfalls zu der Auffassung von Salz-Eiweißverbindungen gekommen. Vom neueren, physikalisch-chemischen Standpunkte aus kämen vor allem die Untersuchungen von Pauli, von Robertson, von Laqueur und Sackur, von Höber, von Spiro und von Galeotti in Betracht. (Die un-

gemein reiche Literatur des Gegenstandes findet sich in einer demnächst in Band 10 der Ergebnisse der Physiologie erscheinenden Monographie von Robertson zusammengestellt.)

Die Versuche an Eiweißkörpern selbst sind die zuverlässigeren, wenn es sich um die sichere Entscheidung der Frage handelt, ob das Eiweiß mit einzelnen Salzen und Ionen Verbindungen eingeht. Denn man kann dann alle diejenigen physikalisch-chemisch gut definierten Kriterien anwenden, die als Beweise für eine Bindung gelten. Durch diese Auffassung soll der hohe Wert des biologischen Versuches nicht gering eingeschätzt werden, sondern nur behauptet werden, daß für diese spezielle Frage die durch das physiologische Experiment erhaltene Antwort nicht eindeutig ist.

Die direkten physikalisch-chemischen Versuche an Eiweiß selbst sind naturgemäß mit solchen Eiweißkörpern zuerst angestellt worden, die leicht rein und vor allem im gelösten Zustande erhältlich waren. Denn unsere geläufigen Methoden der diesbezüglichen Untersuchung sind da, wo nicht etwa der Nachweis eines konstant zusammengesetzten Salzes durch die chemische Analyse geliefert werden kann, stets gegründet auf Veränderungen, die Lösungen dadurch erfahren, daß die gelösten Stoffe entweder zu größeren Verbänden zusammentreten oder in kleinere, beziehentlich zahlreichere Partikel zerfallen oder ihre Oberflächenbeschaffenheit ändern oder auch, daß das Lösungsmittel an Menge zu- oder abnimmt; eine letzte Art von Methoden beruht schließlich darauf, festzustellen, ob der Übergang kolloid gelöster Teile in den ungelösten Zustand irgendwie durch den Zusatz anorganischer Stoffe beeinflußt wird. Es gibt einige wenige Methoden, die gestatten, Beziehungen zwischen ungelösten Stoffen und Lösungen zu untersuchen; diese sind aber bei weitem nicht hinreichend theoretisch gut fundiert, um in dem hier erörterten, wenig geklärten Problem in exakter Weise anwendbar zu sein. So ist es gekommen, daß unsere gesicherten Kenntnisse über physikalisch-chemische Beziehungen zwischen Eiweißkörpern und anorganischen Stoffen sich ausschließlich auf die Eiweißkörper des Blutserums und auf das Casein beschränken.

So wichtig die genannten Eiweißkörper nun sind, es darf doch behauptet werden, daß die biologisch interessantesten Probleme nicht an diese, sondern an die höheren Eiweißkörper der

Zellen anknüpfen. Die Untersuchung des Einflusses der verschiedensten Salze und Ionen auf die Eiweißkörper des Blutes hat ergeben, daß Salze, beziehentlich Ionen, die sich auf Grund ihrer Eigenschaften in eine zusammengehörige Reihe anordnen lassen, dementsprechend auch in gleicher Weise das Serumeiweiß beeinflussen. Ganz im Gegenteil hierzu weist die Erforschung der einzelnen Organfunktionen in unverkennbarer Weise darauf hin, daß die einzelnen, chemisch derselben Reihe angehörigen Salze zu verschiedenen Zellen in eine andere Beziehung treten. Namentlich wenn man die Annahme macht, daß die Funktion einer Zelle in enger Abhängigkeit stehe von den Eiweißarten, die das Protoplasma derselben aufbauen, erwächst die Aufgabe zu prüfen, ob nicht die einzelnen Salze, insbesondere des Blutes, die physikalisch-chemischen Eigenschaften der einzelnen Zelleiweißkörper in charakteristisch verschiedener Weise beeinflussen. Als ein recht günstiger Ausgangspunkt erscheint die Untersuchung der Zelleiweißkörper der Drüsen. Auf Anregung und unter Beihilfe von Prof. Asher habe ich diese Untersuchung in Angriff genommen. Bestimmend hierfür war auch die Tatsache, daß Prof. Asher in seiner Arbeit über die physiologische Permeabilität der Zellen (diese Zeitschr. 14, 1, 1908) eine Hypothese entwickelt hat, die direkt an die hier besprochenen Gesichtspunkte anzuknüpfen gestattet.

Das wesentliche an dieser Hypothese war die Annahme, daß in den Drüsenzellen Stoffe vorhanden seien — gewissermaßen Sammler oder Kondensatoren im Sinne der Eulerschen Fermenthypothese —, deren Aufgabe es wäre, bestimmte Substanzen aus dem Blute auszulesen und die so gesammelten Stoffe bei der Sekretion unter Energieverbrauch wieder freizugeben. Als morphologisches Substrat wurde an die Granula gedacht, deren große Bedeutung für jede Art von Sekretion um so mehr an Wahrscheinlichkeit gewonnen hat, je umfassender die darauf gerichteten histo-physiologischen Untersuchungen geworden sind. Die Granula sind auf Grund einer Reihe von Reaktionen chemisch als Nucleoproteide anzusprechen. Mit Rücksicht hierauf läßt sich die Aufgabe dahin näher präzisieren, daß untersucht werden soll, ob die aus einzelnen Drüsen darstellbaren Nucleoproteide physikalisch-chemische Eigenschaften aufweisen, die im Einklang mit den Besonder-

heiten ihrer Sekretion stehen. Wenn die Vermutung richtig ist, daß das Auslese- und Scheidevermögen der Drüsenzellen in einem Zusammenhang mit der Beschaffenheit der Zellproteide steht, so dürfte erwartet werden, daß die gleichen Salze, beziehentlich Ionen einen verschiedenen Einfluß auf die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Zellproteids hätten, je nachdem die Drüsenzellen, aus denen das betreffende Proteid stammt, die geprüften Salze absondern oder nicht. Offenbar würde, wenn die Vermutung sich bestätigte, eine physikalisch-chemische Grundlage für den Sekretionsakt erkannt worden sein. Eine von physiologischen Gesichtspunkten geleitete Untersuchung wird sich zunächst mit solchen Ionen befassen, die im Blute vorkommen.

Der spezielle Plan der Arbeit bestand also darin, aus Drüsen Nucleoproteide darzustellen, dieselben mit Salzen des Blutes in Verbindung zu bringen und mit geeigneten physikalisch-chemischen Methoden zu prüfen, ob dieselben verschieden beeinflußt würden.

Die erste Schwierigkeit, welche sich entgegenstellt, ist die, daß die Nucleoproteide, nachdem sie rein dargestellt worden sind, nicht mehr wasserlöslich sind. Dadurch ist man verhindert, an diesem Präparate ohne jede weitere Veränderung, so wie man es, wenn auch sehr verunreinigt, im zuerst angefertigten Organextrakt erhält, Untersuchungen anzustellen. Da aber der Gegenstand noch ganz unaufgeklärt ist, wird man sich zunächst an die theoretisch best bekannten Methoden halten, und das sind diejenigen von Lösungen. Um an solchen zu arbeiten, war es daher erforderlich, die gereinigten Proteide in alkalischen Lösungen durch verschiedene physikalisch-chemische Methoden zu prüfen. Proteide in Alkalien gelöst stellen aber etwas anderes dar als die Proteide in den Zellen selbst. Ja, sogar jede Lösung überhaupt ist nicht identisch mit dem Zustand der Zellproteide unter physiologischen Bedingungen. Alles das muß bei etwaigen Resultaten an alkalischen Lösungen von Proteiden berücksichtigt werden. Es sind unzweifelhaft die Proteide durch die Auflösung in $^n/_{10}$-KOH verändert und nur unter der Voraussetzung, daß die Unterschiede zwischen den einzelnen Zellproteiden selbst im abgeänderten Zustande groß genug bleiben, besteht Hoffnung auf Erfolg.

Ein anderer Punkt, der nicht ohne ernstliche Erwägung bleiben darf, ist der Konflikt zwischen den Anforderungen der chemischen und der physiologischen Methodik. Vom rein chemischen, beziehentlich physikalisch-chemischen Standpunkte aus mußte man trachten, zu möglichst reinen Ausgangsprodukten zu gelangen. Vom physiologischen Standpunkte aus kann es aber kaum zweifelhaft sein, daß die fortgesetzte und auf das äußerste getriebene Reinigung der Präparate diese mehr und mehr um Eigenschaften beraubt, die physiologisch für die Funktion von größter Bedeutung sind. Man muß daher absolut im klaren darüber sein, welcher Fragestellung man für den gewollten Zweck den Vorrang einzuräumen habe. Die Entscheidung kann mit Rücksicht auf die Erforschung der physiologischen Funktion nicht schwer sein, und sie wird dadurch erleichtert, wenn man sich vergegenwärtigt, wie groß die Labilität der Zellproteide ist, mit denen wir es zu tun haben. Alexander Schmidt hat wohl zuerst in seinen nicht genügend gewürdigten Studien über das Cytoglobin darauf hingewiesen, daß Behandlung der aus den Zellen gewonnenen Proteide sogar mit Reagenzien, die man zu den sehr indifferenten zu rechnen gewohnt ist, die physikalisch-chemischen Eigenschaften derselben tiefgehend zu verändern vermag. Ein anderes, recht bezeichnendes Beispiel ist das Casein. Laqueur und Sackur (Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 193, 1903) zeigten, daß Trocknen von Casein zwischen 94 und 100° bis zur Gewichtskonstanz nicht allein auffallende Verschiedenheiten vom lufttrockenen Casein herbeiführte, sondern sogar das Präparat in zwei neue Körper spaltete. Aus diesen wenigen, leicht zu vermehrenden Beispielen geht hervor, daß der Versuch, die höheren Eiweißkörper mit den uns zurzeit zur Verfügung stehenden Methoden chemisch zu isolieren, sogar rein chemische, beziehentlich physikalisch-chemische Eigenschaften derselben ändert. Bei dieser Sachlage wird man bei einer überwiegend physiologischen Fragestellung an die Zelleiweißkörper bei dem Versuch, einen ersten Einblick zu gewinnen, zuerst das Hauptgewicht darauf legen, aus verschiedenen Drüsenzellen mit möglichst gleicher Methodik Zelleiweißkörper zu erhalten, wie sie unter den Namen Nucleoproteide und Cytoglobine bekannt sind, die sicherlich keine chemischen Individuen darstellen. Erst später wird die rein chemische Aufgabe in Betracht kommen,

wesentliche Unterscheidungsmerkmale funktioneller Art der einzelnen Zellproteide auf wohlcharakterisierte chemische Bausteine ihres Moleküls zurückzuführen.

Der Plan meiner Untersuchung, die gewissermaßen eine Voruntersuchung für ein größeres Arbeitsgebiet sein soll, bestand auf Grund der vorgetragenen Erwägungen darin, aus zwei verschiedenen Drüsen Zellproteide zu gewinnen, dieselben in alkalischer Lösung einzeln mit verschiedenen Salzen zusammenzubringen und zu prüfen, welche Veränderungen die Eiweißkörper in ihrem physikalisch-chemischen Verhalten durch dieselben erfuhren. Als Ausgangsmaterial wählte ich die Nieren und das Pankreas. Die Zusammensetzung des Sekrets dieser beiden Drüsen ist sehr verschieden, nicht allein in bezug auf die organischen, sondern vor allem auch in bezug auf die anorganischen Bestandteile, auch in bezug auf die Reaktion. Deshalb gestaltet sich die Fragestellung spezieller dahingehend, ob zwischen den ausgeschiedenen (oder nicht ausgeschiedenen) anorganischen Stoffen des Blutes und den Zelleiweißkörpern der beiden Drüsen verschiedene Beziehungen bestehen, etwa so z. B., daß der Zelleiweißkörper derjenigen Drüse, die viel und leicht NaCl ausscheidet, sich NaCl gegenüber anders verhält als das Proteid der anderen Drüse, die nur wenig NaCl absondert. Die Prüfung dieser Beziehungen sollte durch physikalisch-chemische Methoden geschehen, weil diese Methoden zum Teil sehr scharfe Kriterien dafür abgeben, ob eine Art Verbindung zwischen Eiweißkörpern und anorganischen Stoffen eintritt. Das Wort Verbindung wird hierbei in einem allgemeinen Sinne angewandt, ohne Festlegung auf die speziellere Form dieser Bindung. Die Anschauungen, die hier zugrunde gelegt sind, sind denjenigen sehr verwandt, die Pauli, fußend auf zahlreichen und wertvollen Studien am Serumeiweiß, sehr eindrucksvoll vertreten hat (Pauli, Kolloidchemische Studien am Eiweiß. Dresden 1908, Theodor Steinkopff).

Die Auswahl der Methoden war mit einigen Schwierigkeiten verknüpft. Zuerst wurde an eine Methode gedacht und auch versucht, die eine wichtige Bedingung, die im Organismus verwirklicht ist, nachahmen sollte. Im Organismus sind die Zellproteide eingelagert in das kolloidale Protoplasma, beziehentlich sind sie ein Teil desselben. Deshalb wurden im Anfange

Versuche angestellt, die Zellproteide in 20%ige Gelatine einzulagern und nach der Methode von Bechhold oder von Hofmeister die Diffusion und die Quellung an denselben unter variablen Bedingungen zu messen. Abgesehen von einigen Nebenumständen, auf die nicht weiter eingegangen werden soll, scheiterten diese Vorversuche daran, daß die aus den Organen dargestellten Zellproteide eine verdauende Wirkung auf die Gelatine besaßen. Dieselbe war bemerkenswerterweise bei Zusatz von Serum viel geringer, was dafür spricht, daß im Serum Antikörper für die verdauende Wirkung, die den Nucleoproteiden anhaftet, vorhanden sind. Es ist klar, daß überhaupt jede Methode, die eine längere Zeit braucht, so lange ausgeschlossen bleibt, bis es gelingt, Nucleoproteide herzustellen, denen gar keine hetero- und autolytische Wirksamkeit anhaftet. Es kommen also nur rasche Methoden in Betracht, und wir wählten unter diesen die Bestimmung 1. der inneren Reibung, 2. der Leitfähigkeit und 3. der Potentialunterschiede von Gasketten.

Die Methode der Gewinnung der Nucleoproteide.

Die Gewinnung der Nucleoproteide in großen Quanten aus dem Pankreas und der Niere bietet im Hinblick auf den großen Verbrauch von Rohmaterial und den Verlust der Zeit, welche die Bearbeitung erfordert, besondere Schwierigkeiten.

Zur Gewinnung der Nucleoproteide aus dem Pankreas haben wir die Methoden von Umber und von Hammarsten (Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth., Berlin 1909, S. 449) angewandt.

Was die Niere anbelangt, so besitzen wir eine spezielle Beschreibung der Gewinnung der Nucleoproteide aus diesem Organ nicht.

Unserer Gewinnung der Nucleoproteide liegt die Methode von Umber mit einer gewissen Modifikation zugrunde.

Die Art der Gewinnung ging in folgender Weise vor sich:

Die vom Schlachthause in frischem Zustande transportierten Nieren vom Rinde wurden sofort mit 0,9%iger Kochsalzlösung durchspült. Die Niere spülte ich so lange von der Kanüle aus, die mit der Arterie verbunden war, bis die abfließende Flüssigkeit nur sehr schwache Färbung zeigte. Die auf diese Weise durchgespülte Niere wurde in kleine Stücke

zerlegt, wobei das Binde- und Fettgewebe sorgfältig entfernt wurden. Hierauf zerkleinerte ich die Stücke mit Hilfe der Fleischhackmaschine und brachte sie in einen breiigen Zustand. Dieser Brei wurde mit 1,5%iger Lösung von Natr. phosphoricum vermischt: gewöhnlich 2 Teile der Lösung auf 1 Teil der breiigen Masse. Das Gemisch wurde in abgekühltem Raume stehen gelassen, und zwar ungefähr 20 bis 24 Stunden. Dann wurde die Flüssigkeit durch die gewöhnliche Kolatur abfiltriert und durchgequetscht. Zuerst wurde versucht, durch Papier zu filtrieren; aber die Manipulation ging so langsam vor sich, daß innerhalb 24 Stunden nur ungefähr 1 l der Flüssigkeit durchfiltrierte. Zwar gelang es, durch Wechsel des Filtrierpapieres den Vorgang etwas zu beschleunigen; aber trotzdem ging das Filtrieren so langsam vor sich, daß die Flüssigkeit in Zimmertemperatur zu faulen begann. Aus diesem Grunde sahen wir uns genötigt, das Filtrieren durch Papier aufzugeben und es mittels baumwollenen Tuches auszuführen. Die auf diese Weise gewonnene Flüssigkeit hatte rötliche Farbe und war etwas trüb. Die Fällung der Eiweißkörper aus dieser Flüssigkeit erfolgte durch Zusatz von Essigsäure. Und zwar nahm ich den Zusatz in solchem Verhältnis vor, daß die Säure in der alkalischen, 1,5% Natr. phosphoricum enthaltenden Lösung 3% des Volumens betrug.

Diese Quantität der Säure genügte zum Fällen der Eiweißkörper vollauf, so daß bei weiterem Zusatz kein weiterer Niederschlag zum Vorschein kam. Nach Gewinnung des Niederschlages der Eiweißkörper steht die Flüssigkeit noch ungefähr 12 Stunden, bis die übrig gebliebenen Flocken auf den Boden des Gefäßes sinken. Um Verluste des Niederschlages zu vermeiden, ist es empfehlenswert, die Flüssigkeit mit Hilfe des Siphons abzugießen. — Der gewonnene Niederschlag wurde mit Sodalösung bis zur neutralen oder schwach alkalischen Reaktion neutralisiert; dann wurde der Lösung phosphorsaures Natron zugesetzt, und zwar in solchem Verhältnis, daß die Konzentration 1,5% betrug, und die gesamte Menge der Flüssigkeit bei der Bearbeitung ungefähr $^1/_2$ l ausmachte. Nach dem Umrühren wurde diese Flüssigkeit auf einige Stunden bei Zimmertemperatur in Ruhe gelassen und dann mit dem Papierfilter durchgeseiht.

Jetzt geht die Filtrierung dieser Flüssigkeit ziemlich rasch vor sich; man gewinnt eine ganz klare, doch etwas rot ge-

färbte Flüssigkeit. Diese Flüssigkeit wird der gleichen Operation unterworfen wie vordem, d. h. mit Essigsäure niedergeschlagen und der gewonnene Niederschlag mit 3%iger Essigsäure durchgespült und hierauf dekantiert. Das Durchwaschen des Niederschlages muß einige Male wiederholt werden, zum mindesten zwei Male, bis die abgestandene Flüssigkeit ganz farblos ist. Vollständige Entfernung der Flüssigkeit von dem Niederschlage erlangt man nur durch Zentrifugieren und nachheriges zweimaliges Durchwaschen mit Spiritus.

Die Mischung des Niederschlages mit dem Alkohol wurde entweder zentrifugiert oder der Niederschlag durch Dekantierung getrennt.

Nach dem letzten Waschen des Niederschlages mit Alkohol wurde die Mischung filtriert und der Niederschlag auf dem platten Filter gesammelt. Nach dem vollständigen Abfließen des Spiritus wird der Niederschlag auf dem Filter einige Male mit Äther gewaschen. Sobald der Äther ganz abgeflossen und ein wenig abgedunstet ist, wird die nasse Masse der Nucleoproteide in den Mörser gebracht, hier sorgfältig durchgemischt und zur völligen Austrocknung bei Zimmertemperatur gelassen, nachher in dem Exsiccator aufbewahrt.

Bei solcher Bearbeitung erhalten wir Nucleoproteide, die wie ein zartes, feines, grauliches Pulver aussehen. Das Pulver der Nucleoproteide der Niere war immer etwas dunkler als dasjenige aus dem Pankreas.

Pankreas vom Rind wurde für die Bearbeitung sorgfältig in 0,9%iger Kochsalzlösung durchgewaschen; die Drüse wurde möglichst von den Membranen, Blutgefäßen und Fettgeweben gereinigt und der gleichen Bearbeitung wie die Niere unterzogen.

Mit Hilfe der dargestellten Methode gewinnt man eine sehr geringe Menge von Nucleoproteiden; so erlangten wir z. B. aus einer Niere eines ausgewachsenen Tieres lediglich 0,2 bis 0,4 g und aus einem Pankreas 0,3 bis 0,4 g.

Ein größeres Quantum gewinnt man, wenn man die Organe nach der Austrocknung und Verreibung mit Toluol nach der Methode von Wiechowski (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 232, 1907) zu Pulver verwandelt.

Dieses Pulver bearbeiteten wir auf die gleiche Weise wie die rohen Organe. Die Menge der auf diese Weise gewonnenen

Nucleoproteide war erheblich größer: aus den Nieren gewinnt man zweimal so viel wie bei der Bearbeitung des rohen Organes, und aus dem Pankreas noch mehr.

Die von uns gemachten Untersuchungen der Viscosität wurden mit dem aus den rohen Organen gewonnenen Nucleoproteid unternommen, die darauf folgenden Versuche über die Leitfähigkeit und mit Gasketten dagegen mit dem Nucleoproteid, das nach der Methode Wiechowski aus den zu Pulver verwandelten Organen gewonnen worden war. Für den Versuch wurde immer die 2%ige Lösung der Nucleoproteide in $^n/_{10}$-KOH verwendet. Die $^n/_{10}$-Ätzkalilösung wurde in großen Mengen hergestellt und bei allen Versuchen immer von der gleichen Lösung gebraucht.

Bei der Vorbereitung der Nucleoproteidlösungen in $^n/_{10}$-KOH-Lösung bemerkten wir stets einen Unterschied zwischen der Löslichkeit der Nucleoproteide aus der Niere und aus dem Pankreas.

Die Auflösung der aus dem Pankreas gewonnenen Nucleoproteide geht viel rascher vor sich; gewöhnlich bekommt man schon nach 10 Minuten Umrühren mit dem Glasstab eine vollständige Auflösung, während die Auflösung der aus der Niere gewonnenen Nucleoproteide sich unter den gleichen Bedingungen fast zweimal so langsam vollzieht; jedoch war in beiden Fällen die Auflösung der Nucleoproteide eine vollständige, ohne jeden Rückstand.

Untersuchungen der Viscosität.

Die Bestimmungen der Viscosität wurden mit Hilfe eines Viscosimeters nach Ostwald gemacht. Es genügte für unsere Zwecke die „relative Reibung", bezogen auf Wasser, das als Einheit diente, und zwar bei der Temperatur 30° C. Das Viscosimeter befand sich in einem Wasserthermostaten mit Glaswänden. Für Konstanz der Temperatur wurde in bekannter Weise gesorgt. Die Berechnung folgte nach der Formel $y = y^0 \frac{s\,t}{s'\,t'}$, wo y die relative Viscosität, auf Wasser bezogen, y^0 die Viscosität des Wassers, s das spezifische Gewicht und t die Durchflußzeit durch die Capillare des Viscosimeters bedeutet. s' und t' haben die entsprechende Bedeutung wie s und t für die Vergleichsflüssigkeit, nämlich Wasser.

Das spezifische Gewicht wurde mit einem und demselben Pyknometer bei t 20° C bestimmt und auf die gemeingültige Formel $\frac{dt^0}{40} = \frac{m}{w}(Q - \lambda) + \lambda$ berechnet. Zur Untersuchung diente eine 2%ige Lösung von Nucleoproteiden in $^n/_{10}$-KOH-Lösung. Dieselbe wurde für jeden einzelnen Versuch frisch bereitet. Die Menge der Lösung war immer dieselbe — 5 ccm. Zuerst wurde die Durchflußzeit der reinen Lösung bestimmt; dann wurde die Bestimmung wiederholt, nachdem verschiedene, noch zu nennende Substanzen in der Lösung aufgelöst worden waren. Die Zeit des Durchfließens der Flüssigkeit wurde mindestens 5 mal mit dem Chronometer gemessen und aus den gewonnenen Zahlen die Durchschnittszahl genommen. Nach den mehrmaligen Bestimmungen wurde die Durchflußzeit von 5 ccm destillierten Wassers in dem von uns gebrauchten Viscosimeter auf 70,7 Sek. festgestellt.

Gemäß der Hauptaufgabe des von uns untersuchten Problems war es am wichtigsten, die Änderungen zu prüfen, welche die innere Reibung des Pankreas- und Nierenproteides erfuhr, wenn der Lösung geringe Mengen von solchen Stoffen zugesetzt wurden, die durch die betreffenden Drüsen ausgeschieden werden. Es wurden hierzu gewählt NaCl, KCl, Na_2HPO_4, Na_2SO_4 und Traubenzucker. Die gebrauchten Substanzen waren chemisch rein, von Merck bezogen. Die zugesetzte Menge betrug so viel, daß die Gesamtlösung genau die in umstehender Tabelle angegebene Konzentration des betreffenden Stoffes besaß.

Das erste Resultat dieser Versuchsreihen, das in die Augen fällt, ist die Tatsache, daß durchgängig die innere Reibung der Lösung des Pankreasproteids geringer ist als diejenige des Nierenproteids. Diese Verschiedenheit kann nicht an dem Unterschiede der spezifischen Gewichte liegen, denn diese liegen für die beiden Proteidlösungen innerhalb der Fehlergrenzen. Auch nicht daran, daß etwa der Gehalt der beiden Lösungen an Proteid, der jedesmal 2% betragen sollte, wesentlich ungleich wäre. Da die gewonnenen Produkte keine chemisch reinen sind, war an diese Gefahr zu denken. Um nun bei den kleinen mir zur Verfügung stehenden Quantitäten Substanz mit geringen Mengen Lösung einen richtigen Maßstab ihres Gehaltes zu bekommen, habe ich die Lösungen des Pankreas

Tabelle I. Bestimmung der inneren Reibung.

Lösung	Nucleoproteid vom Pankreas					Nucleoproteid von Niere				
	Durchflußzeit	Spezifisches Gewicht	Relative Viscosität	Unterschied	Unterschied %	Durchflußzeit	Spezifisches Gewicht	Relative Viscosität	Unterschied	Unterschied %
Reihe A.										
2% Nucleoproteid in $^n/_{10}$-KOH . . .	88,6	1,0090	1,2644	—	—	118,7	1,0092	1,6944	—	—
Dieselbe + NaCl 0,6%	87,4	1,0124	1,2515	0,0129	1,02	110,1	1,0127	1,5756	0,1188	7,01
+ NaCl 1,2%	85,9	1,0169	1,2355	0,0289	2,28	109,1	1,0177	1,5704	0,1240	7,32
Reihe B.										
2% Nucleoproteid in $^n/_{10}$-KOH . . .	81,1	1,0076	1,1558	—	—	111,7	1,0079	1,5924	—	—
Dieselbe + KCl 0,6%	79,6	1,0119	1,1388	0,0170	1,47	104,3	1,0115	1,4876	0,1048	6,58
Reihe C.										
2% Nucleoproteid in $^n/_{10}$-KOH . . .	88,3	1,0092	1,2604	—	—	124,1	1,0083	1,7284	—	—
Dieselbe + Na_2SO_4 0,2%	86,1	1,0100	1,2300	0,0304	2,41	119,1	1,0095	1,7005	0,0279	1,61
Reihe D.										
2% Nucleoproteid in $^n/_{10}$-KOH . . .	78,3	1,0084	1,1168	—	—	112,7	1,0092	1,6087	—	—
Dieselbe + Na_2HPO_4 0,2%	78,1	1,0096	1,1152	0,0016	0,14	108,2	1,0095	1,5449	0,0638	3,96
Reihe E.										
2% Nucleoproteid in $^n/_{10}$-KOH . . .	81,3	1,0080	1,1591	—	—	119,6	1,0083	1,6972	—	—
Dieselbe + Traubenzucker 0,5% . . .	81,9	1,0097	1,1696	+ 0,0105	0,91	119,7	1,0105	1,7108	+ 0,0136	0,80

In dieser Tabelle gibt jede einzelne Reihe die Durchschnittszahlen aus mehreren Bestimmungen der gleichen Art wieder. Im ganzen kamen hierfür je 5 verschiedene Proteide zur Anwendung. Nicht mit in die Tabelle aufgenommen wurde die wichtige, von mir wiederholt konstatierte Tatsache, daß der Zusatz der geringen Stoffmenge zur bloßen $^n/_{10}$-KOH-Lösung nicht merklich die innere Reibung derselben änderte, wie auch, daß der Unterschied zwischen der Viscosität des Wassers und der KOH-Lösung ein verschwindender war.

und Nierenproteides mit Hilfe von Pulfrichs Eintauchrefraktometer miteinander verglichen. Ich benutzte das von Reiß angegebene Hilfsprisma, das ermöglicht, mit einem einzigen Tropfen klarer Lösung richtige Werte zu erhalten. (Beschreibung der Methode siehe Asher, Die Anwendung der physikalisch-chemischen Methoden in der Physiologie; Tigerstedt, Handb. d. phys. Methodik, 1, 2. Abt.) Die Bestimmung der beiden Lösungen ergab, daß die Schattengrenze im Okular des Refraktometers auf denselben Skalenteil fiel, d. h., daß die beiden Lösungen denselben Brechungsindex besaßen. Daraus darf der Schluß gezogen werden, daß der Gehalt beider Lösungen an Eiweiß annähernd gleich war. Es sei noch bemerkt, daß Zusätze von so geringen Salzmengen, wie ich sie bei meinen Versuchen benutzte, nicht merklich den Brechungsindex der Eiweißlösungen änderten.

Es ist somit die Tatsache festgestellt, daß alkalische Lösungen von Pankreas und Nierenproteid sich sehr deutlich durch die Größe ihrer inneren Reibung voneinander unterscheiden. Um die Ursache dieses Unterschiedes zu erklären, ist man gezwungen, von den Vorstellungen auszugehen, die man sich über das Zustandekommen der inneren Reibung von Eiweißlösungen gebildet hat. Laqueur und Sackur (Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 193), Hardy (Journ. of Physiol. 33, 251) und Pauli und Handovsky (diese Zeitschr. 18, 340) sind auf Grund eingehender Studien zu der Auffassung gelangt, daß die Eiweißionen die Träger der starken inneren Reibung sind. Wenn man sich dieser Hypothese für unseren Fall anschließen wollte, würde man zu behaupten haben, daß das Nierenproteid mehr Eiweißionen abdissoziiere als das Pankreasproteid. Eine gewisse Analogie zu meinen Versuchen bieten diejenigen von Laqueur und Sackur an Casein. Diese Forscher fanden, daß, wenn in einer Caseinlösung die Hydroxylionenkonzentration innerhalb gewisser Grenzen vermehrt wird, die innere Reibung wächst. Sie erklären dies dadurch, daß durch Zusatz von Natriumhydroxyd die hydrolytische Spaltung der Caseinsalze in freie Base und ungelöste Säure zurückgedrängt wird, wodurch andererseits die elektrolytische Dissoziation des Elektrolyten Caseinnatrium steigt. Es sei auch daran erinnert, daß Hardy eine besonders große Erhöhung der Viscosität von

Eiweißlösungen in Alkali, merklich geringere Viscosität, aber immer noch sehr große, bei Lösung in Säure, hingegen niedrige Viscosität bei Lösung von Eiweiß in Neutralsalzlösung fand. Hierdurch wurde eine wichtige Stütze für die Anschauung erbracht, daß ionisiertes Eiweiß die Viscosität sehr erhöht. Beruht nun die größere Viscosität des Nierenproteides gegenüber dem Pankreasproteid darauf, daß das erstere mehr ionisiert ist als das letztere? Der Unterschied in der elektrischen Leitfähigkeit der beiden Präparate, über die nachher berichtet wird, könnte dazu dienen, diese Frage zu bejahen. Aber es muß noch an eine ganz andere Erklärung gedacht werden. Die innere Reibung von Eiweißlösung als beruhend auf deren Gehalt an Eiweißionen anzunehmen, gestatten bisher nur Tatsachen, die an einfachen Eiweißkörpern und nicht an Proteiden erworben wurden. Bei den einfachen Eiweißkörpern ist die Konstitution wenigstens so weit bekannt und einfach, daß man eine plausible Hypothese aufstellen kann, die aus dem Charakter der Aminosäuren als amphoteren Elektrolyten abzuleiten gestattet, wie die Dissoziation sich gestaltet. Aber bei den Proteiden kommen nicht allein die Aminosäuren, sondern auch die Nucleinsäuren in Betracht, deren wechselnde Zusammensetzung nicht ohne Einfluß auf die etwaigen Dissoziationsverhältnisse sein wird. Noch wichtiger aber ist der Umstand, daß die innere Reibung von Eiweißkörpern durchaus nicht allein auf dem Grade ihrer Dissoziation in Ionen beruht, sondern noch von ganz anderen Momenten abhängt. Als solche zählt Hardy auf: 1. die innere Reibung der verschiedenen Phasen nicht homogener Lösungen, 2. die Oberflächenreibung der inneren Oberflächen, 3. die Oberflächenspannung der inneren Oberflächen, 4. die Dichte der elektrischen Ladung, falls die inneren Oberflächen elektrisiert sind. Es wird auf Grund dieser Faktoren alles, was geeignet ist, die Beschaffenheit der Oberflächenteile des Proteides in der Lösung zu ändern, auch die Viscosität der Lösung ändern. Wenn wir nun die Annahme machen, daß das Proteid des Pankreas mehr Alkali bindet als das Proteid der Niere und dem aus ersteren entstehenden Bindungsprodukt eine geringere Viscosität zuschreiben als dem letzteren, wären die Tatsachen erklärt. Es wird nachher gezeigt werden, daß die Ergebnisse der Messung der elektrischen Leitfähigkeit und der

Bestimmung der elektromotorischen Kraft von Konzentrationsketten gleichfalls mit dem Rückschluß auf besondere Bindungsverhältnisse vereinbar sind.

Das nächste Ergebnis der vorstehenden Versuchsreihen ist der sehr deutliche Unterschied von NaCl und KCl auf die innere Reibung der beiden Lösungen. Die genannten Salze vermindern die innere Reibung des Nierenproteides sehr viel mehr als diejenige des Pankreasproteides. Ganz analog verhält sich Na_2HPO_4, das gleichfalls die Viscosität von Nierenproteid weit mehr erniedrigt als diejenige von Pankreasproteid. Wenn wir uns wiederum auf den Standpunkt stellen, daß eine Art Bindung zwischen Salz und Proteid eintritt, so erklären sich die gefundenen Tatsachen durch eine größere Befähigung des Nierenproteides zu diesen Salzbindungen, als sie das Pankreasproteid besitzt.

Etwas abweichend verhält sich Na_2SO_4. Hier ist die Abnahme der Viscosität beim Pankreasproteid größer, aber der Unterschied ist nur ein geringer.

Der Unterschied zwischen den beiden Eiweißkörpern läßt sich durch folgende Anordnung der Ergebnisse weiter veranschaulichen. Die Abnahme der Viscosität der Pankreasproteidlösung geht nach der Reihe: $Na_2SO_4 > KCl > NaCl > Na_2HPO_4$, während diejenige der Nierenproteidlösung anders verläuft, nämlich: $NaCl > KCl > NaHPO_4 > Na_2SO_4$.

Ganz anders gestaltet sich die Einwirkung von Traubenzucker auf die beiden Proteide, indem diese in beiden Fällen keinen anderen Einfluß als den einer ganz minimalen Viscositätserhöhung hat. Das abweichende Verhalten des Traubenzuckers gegenüber den Elektrolyten spricht zugunsten der Annahme, daß die Einwirkung der letzteren auf einer Art Bindung zwischen Eiweiß und Elektrolyten besteht.

Es ist nicht schwer zu zeigen, daß diesen physikalisch-chemischen Befunden eine physiologische Bedeutung inne wohnt. Wenn das besondere Auslese- und Scheidevermögen des Pankreas für Alkali gegenüber der Niere u. a. im Zusammenhange stände mit einem besonderen Bindungsvermögen des Pankreasproteides für Basen, so hätte man einen entsprechenden Unterschied im physikalisch-chemischen Verhalten beim Zusammenbringen von Alkali mit den beiden Eiweißkörpern zu erwarten. Dies war auch tat-

sächlich der Fall. Sinngemäß erblicken wir auch in der größeren Viscositätsverminderung des NaCl, KCl, Na_2HPO_4 auf das Nierenproteid einen Zusammenhang mit dem größeren Scheidevermögen der Nierenzelle für diese Elektrolyte. Daß allerdings das Na_2SO_4 sich dieser Betrachtungsweise nicht einfügt, muß wohl eingestanden werden, und vorläufig kann hierfür auch keine Erklärung gegeben werden. Da Traubenzucker in 0,5%iger Lösung auf die innere Reibung von Nierenprotein ohne Einfluß war, besteht offenbar zwischen Proteid und diesem nicht leitenden Krystalloid keine derartige Bindung, wie wir sie mit den Elektrolyten anzunehmen berechtigt waren. Daher gewinnen wir nach dieser Richtung keine Aufklärung für den Mechanismus des Scheidevermögens der Niere für Zucker, wohl aber sprechen die mit Alkali und den drei Elektrolyten NaCl, KCl und Na_2HPO_4 gefundenen Tatsachen zugunsten der Hypothese von Asher, daß in den Granula (Proteiden) „Kondensatoren" für Stoffe vorliegen, die im Blute vorkommen und durch die Drüsen ausgeschieden werden.

Bestimmung der Leitfähigkeit.

Die Leitfähigkeit der Proteidlösungen wurde nach der Methode von Kohlrausch bestimmt. Hierzu wurden ein Platiniridiumrheochord und ein Induktorium mit Mückenton von Ostwald, ein Telephon und das kleine Widerstandsgefäß von Asher angewandt. Der Thermostat wurde konstant auf 30° erhalten, dieselbe Temperatur wie bei Ermittelung der Viscosität. Das im Telephon gehörte Minimum war stets ein scharfes.

In der nachfolgenden Tabelle bedeutet W den Widerstand der Lösung in Ohm, berechnet nach der Formel $W = R \times \frac{a}{b}$, Λ die spezifische Leitfähigkeit nach der Formel $\Lambda = \frac{C}{R} \times \frac{b}{a}$, wo C die Kapazität des Widerstandsgefäßes bedeutet.

Je vier verschiedene Eiweißpräparate dienten zu den Versuchsreihen von Tabelle II. Die gleiche $^n/_{10}$-KOH-Lösung wurde für alle vier Versuchsreihen und die dazugehörigen Kontrollversuche benutzt.

Tabelle II.

Bestimmung der Leitfähigkeit.

Lösung	Eiweiß von Pankreas			Eiweiß von Niere		
	W Widerstand	*Λ* spezifische Leitfähigkeit	Unterschied %	*W* Widerstand	*Λ* spezifische Leitfähigkeit	Unterschied %
Versuchsreihe A.						
2% Eiweiß in $^n/_{10}$-KOH . .	110,40	$98{,}0\times10^{-4}$		85,54	$126{,}0\times10^{-4}$	
Dieselbe + NaCl 0,6% . .	57,71	$187{,}0\times10^{-4}$	+ 90,8	51,16	$211{,}0\times10^{-4}$	+ 67,4
Versuchsreihe B.						
2% Eiweiß in $^n/_{10}$-KOH . .	104,50	$103{,}0\times10^{-4}$		91,80	$118{,}0\times10^{-4}$	
Dieselbe + KCl 0,6% . . .	53,05	$204{,}0\times10^{-4}$	+ 98,0	56,71	$191{,}0\times10^{-4}$	+ 61,9
Versuchsreihe C.						
2% Eiweiß in $^n/_{10}$-KOH . .	103,76	$104{,}0\times10^{-4}$		92,91	$116{,}0\times10^{-4}$	
Dieselbe + Na_2SO_4 0,2% .	96,37	$112{,}0\times10^{-4}$	+ 7,7	89,37	$121{,}0\times10^{-4}$	+ 4,3
Versuchsreihe D.						
2% Eiweiß in $^n/_{10}$-KOH . .	105,60	$102{,}0\times10^{-4}$		92,11	$117{,}0\times10^{-4}$	
Dies. + Traubenzucker 0,5%	126,50	$85{,}0\times10^{-4}$	− 16,6	124,47	$87{,}0\times10^{-4}$	− 25,6

Wir sehen zunächst, daß die Leitfähigkeit der alkalischen Pankreasproteidlösungen stets geringer ist als diejenige der Nierenproteidlösungen. Nehmen wir aus den gewonnenen Resultaten einen Durchschnittswert der an Pankreasproteidlösungen gefundenen Leitfähigkeit und bezeichnen wir denselben mit 100, so beläuft sich die Leitfähigkeit der Nierenproteidlösung auf 117. Die einfachste Erklärung für diesen Unterschied ist die, daß durch das größere Basenbindungsvermögen des Pankreasproteides die Leitfähigkeit der KOH-Lösung mehr vermindert wird als durch das Nierenproteid, indem eben durch das erstere mehr Ionen gebunden und der Leistung des Transportes von Elektrizität entzogen werden als durch das letztere. Man kann also die Erscheinungen der inneren Reibung und der elektrischen Leitfähigkeit, die an beiden Eiweißpräparaten beobachtet worden sind, einheitlich erklären. Hierdurch gewinnt auch die oben ausführlich auseinandergesetzte Annahme über die Beziehung zwischen physikalisch-chemischen Eigenschaften und physiologischer Funktion eine neue Stütze.

An eine Fehlerquelle muß gedacht werden, von welcher der beobachtete Unterschied herrühren könnte. Da die angewandten Präparate nicht aschefrei und nicht dialysiert waren, könnten vielleicht in die Lösungen verschiedene Mengen von Salzen aus den Präparaten austreten und diese den Unterschied

bedingen. Um diese Fehlerquelle zu beurteilen, wurden je 10 ccm genau 2%iger Proteidlösung von Pankreas und Niere in $^n/_{10}$-KOH-Lösung bereitet. Diese wurden mit je 10 ccm $^n/_{10}$-HCl-Lösung versetzt, wodurch das ganze Proteid ausgefällt wurde. Die Prüfung der Leitfähigkeit der darüberstehenden, vollkommen klaren Flüssigkeit ergab für die Flüssigkeit der Pankreaslösung: $W = 181{,}41$, $\Lambda = 59 \times 10^{-4}$, für diejenigen der Nierenlösung: $W = 178{,}42$, Λ $60{,}0 \times 10^{-4}$. Die beobachteten Unterschiede sind so gering, daß man die viel größeren Unterschiede der obigen Tabelle II nicht von einem den Präparaten anhaftenden Salzgehalt ableiten kann.

Man könnte natürlich auch behaupten, daß die größere Leitfähigkeit des Nierenproteids wie dessen innere Reibung von dem größeren Gehalt an Eiweißionen abhänge. Weil aber die von mir hier vertretene Ansicht im Einklang mit allen in dieser Arbeit gefundenen Tatsachen steht und im übrigen weniger Schwierigkeiten macht, ziehen wir dieselbe vor.

Der Zusatz von NaCl, KCl und Na_2SO_4 vergrößert die Leitfähigkeit sowohl des Pankreas wie des Nierenproteides. Nicht dies ist aber das bemerkenswerte, sondern der Unterschied in dem Umfange dieser Vergrößerung: bei den Pankreasproteidlösungen 90,8%, 98% und 7,7%, bei den Nierenproteidlösungen entsprechend nur 67,4%, 61,9% und 4,3%. Die geringere Zunahme der Leitfähigkeit in den Nierenproteidlösungen erklärt sich am einfachsten durch die Annahme, daß in diesen Lösungen ein etwas größerer Teil des zugesetzten Salzes durch Bindung an Proteid dem Ionenzustand entzogen wird.

Es stimmen also sowohl die Tatsachen wie die Erklärungen, die sich hinsichtlich der inneren Reibung und der elektrischen Leitfähigkeit geben lassen, zwanglos im großen und ganzen überein; das gleiche gilt von der Beziehung des physikalisch-chemischen Tatbestandes zu der physiologischen Funktion des Organes, aus dem die verschiedenen Proteide stammen. Dieses Mal fügt sich auch das Na_2SO_4 unserer Betrachtungsweise ein, was bei den Daten der Viscositätsbestimmung nicht der Fall war.

Der Zusatz von Traubenzucker beeinflußt offenbar die Eiweißlösungen nicht anders als daß sein Zusatz gemäß seiner

Natur als Nichtelektrolyt die Leitfähigkeit der Lösungen verschlechtert. Allerdings ist ein Unterschied zwischen der Pankreas- und Nierenproteidlösung zu beobachten; aber die Erklärung hierfür mag noch offen bleiben, weil dieselbe weitere Untersuchungen erfordert.

Einiges Licht auf die Beziehungen zwischen den Eiweißkörpern und Elektrolyten wirft ein Vergleich, der sich aus der Bestimmung der Leitfähigkeit der eiweißfreien Alkalilösung ohne und mit Zusatz von anderen Stoffen ergibt.

Tabelle III.

Lösung	W	Λ	Unterschied %
$^n/_{10}$-KOH . . .	52,60	205×10^{-4}	
$^n/_{10}$-KOH + NaCl 0,6% . .	40,16	269×10^{-4}	+ 31,5
$^n/_{10}$-KOH + KCl 0,6% . . .	39,12	276×10^{-4}	+ 34,6
$^n/_{10}$-KOH + Na_2SO_4 0,2% .	59,28	182×10^{-4}	— 11,2
$^n/_{10}$-KOH + Traubenzucker 0,5%	67,41	160×10^{-4}	— 21,9

Es zeigt sich, daß der Zusatz von NaCl und KCl zu einer $^n/_{10}$-KOH-Lösung die Leitfähigkeit sehr wesentlich vermehrt, von Na_2SO_4 merklich dieselbe vermindert. Nun war aber, wie aus Tabelle II hervorging, der Zuwachs, unter gleichen Bedingungen, bei den Proteid enthaltenden Lösungen sehr viel größer, beziehentlich bei Na_2SO_4 kehrte sich die Verminderung in eine geringe Zunahme um.

Hieraus geht hervor, daß in den Proteidlösungen bei Zusatz dieser Stoffe ein neues Moment hinzukommen muß, um die Leitfähigkeit der Lösungen zu erhöhen. Erhöht wird aber die Leitfähigkeit einer Lösung durch die Vermehrung der zum Transport von Elektrizität dienenden Teile und durch Verminderung des Widerstandes, den die wandernden Ionen erleiden. Wenn nun in den Proteidlösungen durch den Zusatz von Elektrolyten nicht allein die Zahl der leitenden Ionen vermehrt wird, sondern auch der Widerstand, den die Eiweißteile bieten, vermindert wird, so haben wir eine Erklärung für den großen Zuwachs der Leitfähigkeit in den Eiweißlösungen. Eine

Art Bindung der Elektrolytteile an die Proteide würde durch eine etwaige Änderung von deren Oberflächenbeschaffenheit das Geforderte leisten. Der Vergleich und die Erwägungen, die man an denselben zu knüpfen hat, bringen demnach von einer neuen Seite Stützen für die Anschauung der besonderen Bindung zwischen Proteiden und Elektrolyten und als Folge hiervon eine Verdeutlichung des funktionell bedeutsamen Unterschiedes in den physikalisch-chemischen Eigenschaften zweier Zellproteide.

Traubenzucker zeigt den beschriebenen Unterschied in den beiden Lösungen nicht. Lösungen mit und ohne Eiweiß verhalten sich fast gleich. Genau, wie oben dargelegt wurde, ist die Ursache darin zu erblicken, daß derselbe keine derartige Bindung mit Proteiden einzugehen vermag.

Nur im Vorübergehen möge darauf hingewiesen werden, daß gerade die zuletzt beschriebene und diskutierte Tatsachenreihe der obenerwähnten und zurückgewiesenen Erklärung durch Änderung in der Zahl der Eiweißionen große Schwierigkeiten bereitet.

Untersuchung mit Hilfe der Konzentrationsketten.

Um die oben gemachte Annahme, daß das Pankreasproteid mehr Alkali binde als das Nierenproteid, noch weiter zu prüfen, bot sich in der Untersuchung der elektromotorischen Kraft von Konzentrationsketten ein geeignetes Mittel. Gesetzt, wir tauchen in zwei $^n/_{10}$-KOH-Lösungen mit H beladene Platinelektroden, so zeigen dieselben, weil die Lösungen genau gleichen H-Gehalt haben, keinen Potentialunterschied. (Nach dem sehr zweckmäßigen Vorschlag von Friedenthal benutzt man als einheitliches Maß von Säuren und Alkalien ihre Konzentration an H-Ionen.) Wenn aber die eine Lösung einen Eiweißkörper dazu enthält, wird ein Potentialunterschied auftreten, falls derselbe Alkali bindet und beim Vergleich von zwei Eiweißkörpern mit einer eiweißfreien $^n/_{10}$-KOH-Lösung wird der Potentialunterschied verschieden sein, wenn die Basenkapizität der Eiweißkörper verschieden ist. Auch die Säure-Alkalikette läßt sich zum gleichen Zwecke benutzen. Der bekannte Potentialunterschied derselben wird sich ändern, falls im Alkali gelöstes Proteid Alkali bindet. Durch die Bindung von Alkali findet eine Abnahme der freien OH-Ionen statt, und damit das Pro-

dukt $H \times OH$ konstant bleibt, muß eine Zunahme des H-Gehaltes eintreten. Folglich wird der vorher bestehende Konzentrationsunterschied an H in der Säure-Alkalikette vermindert und dasselbe wird mit dem Potentialunterschied geschehen. Vergleichen wir zwei verschiedene Proteidpräparate auf diese Weise miteinander, so erhalten wir gleichfalls einen Aufschluß darüber, ob ein Unterschied in ihrem Basenbindungsvermögen besteht.

Der Potentialunterschied wurde in bekannter Weise durch die Poggendorfsche Konzentrationsmethode bestimmt. Die Hamburgersche Form der Konzentrationskette wurde benutzt, zur Messung diente ein mit einem Normalelementgewicht geeichtes, selbstangefertigtes Cadmiumelement. Als Nullinstrument diente das Capillarelektrometer. Sehr zu statten kam uns bei unseren Messungen der von Michaelis und Rona (diese Zeitschr. 18, 317, 1908) empfohlene Kunstgriff, daß die mit Wasserstoff beladenen Platinelektroden die Flüssigkeit gerade knapp berühren. Wie diese Autoren angeben, findet dann die Einstellung des Gleichtgewichtes sehr schnell statt. Als Zwischenflüssigkeit der Säure-Alkalikette diente $^n/_{10}$-KCl-Lösung.

Die Messungen ergaben folgendes: Brachte man in den einen Schenkel der Gaskette, die vorher bei beiderseitiger Beschickung mit $^n/_{10}$-KOH-Lösung keinen Potentialunterschied zeigte, Nierenproteidlösung in $^n/_{10}$-KOH-Lösung, so ergab sich eine elektromotorische Kraft von 0,014 Volt, wenn es hingegen Pankreasproteidlösung war, 0,093 Volt. Diese Zahlen sind Durchschnittswerte aus einer größeren Reihe von Messungen. Entsprechend den Anforderungen der Theorie war die in Eiweißlösung tauchende Elektrode die positive, was besagt, daß in dieser Lösung die H-Ionen zu-, beziehentlich die OH-Ionen abgenommen hatten. Da nun der Potentialunterschied in der mit Pankreasproteid beschickten Gaskette viel größer war, folgt daraus, daß das Pankreasproteid ein größeres Basenbindungsvermögen besitzt wie das Nierenproteid.

Die elektromotorische Kraft der von mir benutzten Säure-Alkalikette betrug 0,633 Volt. War aber im Alkali Nierenproteid aufgelöst, so ergab sich ein durchschnittlicher Wert von 0,629 Volt; bei Pankreasproteid hingegen betrug der Potentialunterschied 0,599 Volt.

Das Resultat ist also das gleiche wie das vorherige. Auf Grund der oben kurz skizzierten Theorie besagt dieses Ergebnis nämlich, daß durch das Pankreasproteid mehr Alkali gebunden wird als durch das Nierenproteid und daß deshalb durch ersteres der Potentialunterschied der Säure-Alkalikette mehr vermindert wird als durch letzteres. Die Annahmen, die wir oben auf Grund der Viscositätsbestimmungen gemacht haben, sind demnach durch die sehr genaue Methode der Konzentrationsketten bestätigt worden.

Es wurde vorgezogen, die erhaltenen Resultate nur durch die Potentialunterschiede auszudrücken, ohne aus diesen die Konzentration der H-Ionen auszurechnen. Denn das, worauf es ankommt, ist durch die Potentialunterschiede sehr anschaulich dargestellt. Die Ausrechnung der genauen H-Konzentration erhält dann erst ihren wahren Wert, wenn Messungen an durchaus reinen Präparaten vorliegen.

Zusammenfassung.

Durch die vorstehenden Untersuchungen ist gezeigt worden, daß die aus zwei Drüsen mit sehr verschiedener Sekretion gewonnenen Proteide, nämlich Pankreas- und Nierenproteid, ganz bestimmte physikalisch-chemische Unterschiede zeigen, die in naher Beziehung zur sekretorischen Funktion der betreffenden Drüsenzelle zu stehen scheinen. Die innere Reibung von alkalischen Lösungen von Nierenproteiden war größer als diejenige von Pankreasproteiden. Zusatz von Elektrolyten, die im Blutplasma vorkommen, verminderte die Viscosität von Nierenproteiden mehr als diejenige von Pankreasproteiden. Traubenzucker hatte keinen besonders unterschiedlichen Einfluß. Die Leitfähigkeit von Lösungen des Nierenproteides war größer als diejenige des Pankreasproteids. Zusatz von Elektrolyten erhöht die Leitfähigkeit der in $^n/_{10}$-KOH gelösten Proteide mehr als diejenige der eiweißfreien $^n/_{10}$-KOH. Die Erhöhung der Leitfähigkeit ist größer in den Pankreasproteidlösungen als in den Nierenproteidlösungen.

Die Messung der elektromotorischen Kraft von Gasketten (Alkali-Alkali- und Säure-Alkali-Ketten) mit den beiden Proteidlösungen ergibt, daß die Pankreasproteidlösungen mehr Alkali binden als die Nierenproteidlösungen.

Alle diese Tatsachen werden durch die Annahme erklärt, daß die untersuchten Proteide eine gewisse Bindung mit den Elektrolyten eingehen. Das Pankreasproteid hat ein größeres Bindungsvermögen für KOH, das Nierenproteid für NaCl, KCl, Na_2HPO_4 und Na_2SO_4. Eine physiologische Bedeutung dieser Tatsachen liegt darin, daß die physikalisch-chemischen Verhältnisse in ihren Unterschieden vollkommen übereinstimmen mit den Unterschieden im Scheidevermögen von Pankreas und Niere. Die von Asher aufgestellte Hypothese, daß in den Granula der Drüsen Kondensatoren für Stoffe vorliegen, die ausgeschieden werden, findet in diesen Tatsachen eine Stütze. Doch bedarf dieselbe noch ausgedehnter Versuche an anderen Proteiden, die in Aussicht genommen sind.

Über die Bestimmung des Quecksilbers in Harn und Faeces.

Von

Conrad Siebert, Charlottenburg.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Kgl. physiologischen Instituts und der Kgl. dermatologischen Klinik in Breslau.)

(Eingegangen am 26. März 1910.)

Bei einer Betrachtung aller bis dahin gebräuchlichen Methoden, die zur Bestimmung von Quecksilber im Harn und in den Faeces ausgearbeitet worden sind, fällt es auf, daß bei ihnen von dem Prinzip der Quecksilberbestimmung als Quecksilbersulfid so wenig Gebrauch gemacht ist, also von einer Methode, die doch sonst in der analytischen Chemie mit Recht als eine der zuverlässigsten gilt.

Als von Geheimrat Neißer die Anregung zu einer großen Reihe von Untersuchungen ausging, bei denen die Ausscheidung des Quecksilbers aus dem menschlichen und tierischen Organismus gleichzeitig in Harn und Kot untersucht werden sollte, hielten wir es für notwendig, uns als Vorarbeit mit der Methode der Quecksilberbestimmung in diesen Ausscheidungsprodukten zu beschäftigen.

Meine Versuche, die ich unter Leitung von Herrn Prof. F. Röhmann ausführte, zeigten nun in der Tat, daß sich auch in Harn und Faeces das Quecksilber nach Zerstörung der organischen Substanz sicher und genau als Schwefelquecksilber durch Wägen bestimmen läßt. Im Vergleich mit den bisher gebräuchlichen Methoden scheint unsere Methode in den einzelnen Manipulationen sogar etwas einfacher zu sein, so daß sich nach einiger Übung wohl jeder etwas mit chemischer Technik vertraute Mediziner in sie hineinarbeiten kann.

Bei der Quecksilberbestimmung in organischen Substanzen müssen zunächst diese vollständig zerstört werden. Man bediente sich bis dahin vornehmlich des Verfahrens mit Salzsäure und chlorsaurem Kali. Da diese Methode sehr zeitraubend ist und durch die Chlorentwicklung, besonders wenn solche Untersuchungen wie in der Breslauer Klinik sich über Monate hin erstrecken sollen, für die betreffenden Arbeiter und die Umgebung gesundheitsschädlich und lästig sind, so haben wir uns des Neumannschen Verfahrens, Zerstörung der organischen Substanz mit rauchender Salpetersäure und konz. Schwefelsäure, bedient, das von F. Röhmann und Steinitz auch zur Bestimmung des Eisens in organischen Substanzen verwendet worden ist.[1])

Der Gang der Quecksilberbestimmung ist nun folgender:

I. Bestimmung des Quecksilbers im Harn.

In einer sorgfältig gereinigten Abdampfschale werden der abgemessenen Menge Harn 15% des Volumens rauchende Salpetersäure vorsichtig zugesetzt. Unter behutsamem Umrühren läßt man zunächst, ohne zu erwärmen, die zum Teil etwas stürmische Reaktion sich vollziehen. Hierauf erwärmt man das Gemisch bei kleineren Mengen auf dem Wasserbade, bei größeren über freier Flamme, bis es auf $^1/_3$ eingeengt ist. Sorgfältig ist durch öfteres Umrühren zu verhüten, daß sich nicht an der Wand der Schale salpetersaure Salze ansetzen, die beim trocknen Erhitzen derselben zu Quecksilberverlusten führen könnten. Nach dem Einengen gießt man die Flüssigkeit unter wiederholtem Nachspülen der Abdampfschale in einen langhalsigen, etwa 1 bis 1,5 l fassenden Kolben aus Jenaer Glas. In diesem Kolben, dessen Hals man zweckmäßig mit dicker Asbestpappe umgibt, engt man die Flüssigkeit über freier Flamme noch weiter bis auf etwa 100 ccm ein. In den Kolben, der schräg in ein Stativ eingeschraubt ist, läßt man dann aus einem Schütteltrichter unter vorsichtigem Erhitzen von Zeit zu Zeit etwas von einem Gemisch aus $^1/_3$ rauchender Salpetersäure und $^2/_3$ konz. Schwefelsäure zufließen. Der Zusatz der Säuremischung erfolgt so lange, bis auch bei weiterem Erhitzen die Flüssigkeit farblos bleibt und sich nicht mehr braun

[1]) Fresenius, Zeitschr. f. anal. Chem. 38, 433.

färbt. Die Oxydation der organischen Substanzen ist jetzt vollendet, und wir müssen uns nun des in der Mischung vorhandenen Säureüberschusses nach Möglichkeit zu entledigen suchen. Wir erhitzen daher die Mischung noch weiter über freier Flamme, um die überschüssige Schwefel- und Salpetersäure zu verjagen. Als Brenner benutzt man beim Erhitzen am besten einen mittleren Teclubrenner mit Pilzaufsatz. Durchaus zu vermeiden ist es, daß die Flamme in direkte Berührung mit der Glaswand kommt, da sonst leicht durch Überhitzen der Ränder Quecksilberverluste eintreten können. Nachdem die Schwefelsäure zum größten Teil abgeraucht ist, wird der Rückstand unter Abkühlen vorsichtig mit destilliertem Wasser verdünnt und noch eine Zeit lang gekocht, um die letzten Reste der Salpeter- und salpetrigen Säure zu verjagen. Jetzt wird vorsichtig unter Wasserkühlung starke Ammoniaklösung (Ammon. caustic. triplex) hinzugefügt, so lange bis ein Tropfen des Gemisches blaues Lackmoidpapier nicht mehr rötet. Hierauf säuert man die Lösung wieder vorsichtig mit konz. Salzsäure an (Rötung von blauem Lackmoidpapier). Um die Silicate, die durch das Kochen mit den starken Säuren aus den benutzten Gläsern in Freiheit gesetzt wurden und sich in Ammoniak lösen, zur vollständigen Abscheidung zu bringen, hält man die salzsaure Lösung noch etwa 20 Minuten im Kochen und läßt sie dann 24 Stunden stehen. Nach dieser Zeit wird die Flüssigkeit in einen Erlenmeyerkolben filtriert und das Filter sorgfältig mit heißem Wasser ausgewaschen.

Durch das mäßig angewärmte Filtrat leitet man dann etwa 20 Minuten einen Schwefelwasserstrom. Die klare Flüssigkeit färbt sich nun zunächst gelb, dann fällt das Schwefelquecksilber in feinen Flocken aus. Ist sehr wenig Quecksilber in der Flüssigkeit, so kommt es gar nicht zur Ausscheidung von Schwefelquecksilber, sondern die kleine Menge bleibt kolloidal gelöst, was sich durch die Gelbfärbung zu erkennen gibt. In jedem Falle wird die Flüssigkeit nach Einleiten des H_2S weiter erwärmt, wobei auch das kolloidale Schwefelquecksilber zum Ausfallen gebracht wird, denn die Färbung der Lösung verschwindet. Man setzt das Erwärmen bis zur vollständigen Vertreibung des Schwefelwasserstoffes fort, d. h. bis ein über den Kolben gehaltenes, angefeuchtetes Bleiacetatpapier sich nicht mehr bräunt.

Nachdem man den Niederschlag gut hat absetzen lassen, filtriert man die Flüssigkeit mittels einer Saugpumpe durch einen gewogenen glasierten Goochtiegel, auf dessen Boden sich eine Schicht gut gereinigten und gut gezupften Asbestes befindet. Man wäscht mit kaltem, dann heißem destilliertem Wasser und schließlich mit 96%igem Alkohol gut nach.

Der in dem Goochtiegel befindliche Niederschlag ist mehr oder minder mit ausgefallenem Schwefel verunreinigt. Durch Extraktion des Niederschlages mit Schwefelkohlenstoff entfernt man denselben. Nach beendeter Extraktion wird der überschüssige Schwefelkohlenstoff mit der Wasserstrahlpumpe abgezogen und der Tiegel mit Alkohol und dann mit Äther nachgewaschen. Der Tiegel wird dann bei einer Temperatur von 100 bis 110° getrocknet und nach völligem Erkalten im Exsiccator gewogen.

In etwa 1 l Harn wurden 0,1 g Sublimat = 0,074 g Quecksilber zugesetzt, gefunden wurden in einem Falle 0,0068 g, im andern 0,0072 g Quecksilber.

Die Fehler bewegen sich nur innerhalb von $^1/_{10}$-Milligrammen, also innerhalb der schon normalerweise vorhandenen Wägefehler.

II. Bestimmung des Quecksilbers in den Faeces.

Die gewogenen Faeces werden zunächst mit Alkohol verrieben, der Alkohol dann auf dem Wasserbade verjagt. Diese Prozedur wird so oft wiederholt, bis die Faeces nach dem Verdampfen des Alkohols als vollständig trocknes Pulver zurückbleiben. Es hat dies wesentlich den Zweck, die Faeces für etwaige notwendige Kontrollversuche in eine bequeme haltbare Form überzuführen. Eine gewogene Menge des trockenen Pulvers wird dann ungefähr mit doppeltem Gewichtsvolumen destilliertem Wasser übergossen und so lange vorsichtig rauchende Salpetersäure zugesetzt, bis sich alles aufgelöst hat. Diese Lösung wird dann genau so weiter behandelt, wie dies von der Bestimmung im Harn ausführlich angegeben ist, d. h. die organischen Substanzen zunächst durch die Schwefelsäure-Salpetersäuremischung zerstört usw.

Die Bestimmungen, bei denen Quecksilber den Faeces zugesetzt wurde, haben, ähnlich wie bei den Harnbestimmungen,

auch nur Fehler, die sich innerhalb der $^1/_{10}$-Milligramme bewegen, ergeben. —

Auf den ersten Blick mag ja auch unsere Methode recht kompliziert erscheinen, im Prinzip ist sie einfach. Sie fordert aber in allen Abschnitten, besonders auch beim Wiegen, sorgfältigstes und gleichmäßigstes Arbeiten, denn es handelt sich bei der Untersuchung von Harn und Faeces stets um Abscheidung und Wiegen von nur sehr kleinen Mengen Quecksilber, die aus großen Mengen organischer Substanz gewonnen werden müssen. Die ersten Bestimmungen werden ja vielleicht dem Untersucher gewisse Schwierigkeiten bereiten. Mit einiger Geduld und mit einiger Übung wird man aber über diese hinweg kommen, und die Methode gibt dann durchaus zufriedenstellende Resultate. Es gelingt dann auch bald mehrere Bestimmungen nebeneinander durchzuführen. Über eine Anzahl Versuchsreihen, die unter Anwendung der beschriebenen Methode ausgeführt wurden, wird demnächst Herr cand. med. H. Wallfisch berichten, der auch über die zahlreichen, von ihm ausgeführten Kontrollversuche weitere Angaben machen wird.

Zur Methodik der Eisenbestimmung im Blute.

Von

D. Charnass.

(Aus der I. medizinischen Klinik in Wien.)

(Eingegangen am 26. März 1910.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die Frage der Eisenbestimmung im Blute gewinnt immer mehr an Interesse, seitdem die ältere, von Hoppe-Seyler herrührende Ansicht, daß das Eisen im Blute im konstanten, der molekularen Zusammensetzung des Hämoglobins entsprechenden Verhältnisse zum Blutfarbstoffe steht, in sehr zahlreichen, namentlich pathologischen Fällen, sich als nicht zutreffend erwiesen hat. Wir können hier auf diese schwierige Frage, die noch ein sehr eingehendes Studium erfordert, nicht näher eingehen und möchten uns vorläufig auf den rein experimentellen Teil der Sache beschränken, indem wir die in Vorschlag gebrachten Methoden der Eisenbestimmung im Blute einer exakten Prüfung unterziehen.

Die Methode von Hoppe-Seyler, die natürlich nur selten zur Anwendung gelangen wird, da dieselbe verhältnismäßig größere Quantitäten von Blut erfordert, kommt hier wenig in Betracht. Wir sind daher, da ja nur minimale Blutmengen entnommen werden können, von vornherein auf colorimetrische Methoden angewiesen, bei denen wegen der außerordentlichen Empfindlichkeit der in Betracht kommenden Farbenreaktionen die Bestimmung auch in sehr geringer Blutmenge möglich ist. Es wurden bis jetzt bereits einige solcher Reaktionen für diesen Zweck in Vorschlag gebracht, von denen das Verfahren von Ad. Jolles in der Praxis am meisten angewendet und sehr

eingehend nachgeprüft wurde. Es scheint aber zurzeit noch kein geschlossenes Urteil über die Verwendbarkeit dieser Methode für klinische Untersuchungen vorzuliegen, vielmehr sind die Meinungen der einzelnen Autoren darüber geteilt, wenn auch zugegeben werden muß, daß die Einwände, die gemacht wurden, meist theoretischer Natur sind, und wohl für das alte Jollessche Verfahren zutreffen, nicht aber für sein modifiziertes Verfahren mit dem sog. „klinischen Ferrometer", der auf rein empirischer Basis aufgebaut ist.

Da die ältere Methode von Jolles, die als rein colorimetrisches Verfahren strengen wissenschaftlichen Anforderungen zweifellos nicht standhalten kann, oft mit seinem neueren empirischen Verfahren verwechselt wird, und beide als theoretisch nicht einwandfrei erklärt werden, so sei hier kurz darauf hingewiesen, daß beide Verfahren, die bis auf die eigentliche Bestimmung der Farbenintensität sehr ähnlich sind, streng auseinander zu halten sind.

Wir möchten hier von einer Besprechung der älteren Methode von Jolles absehen und uns ausschließlich mit der Frage hinsichtlich der praktischen Verwendbarkeit seiner neueren empirischen Methode beschäftigen, die — soweit aus der Literatur zu ersehen ist — mit der Frage identisch ist, ob wir überhaupt in der Lage sind, Eisen im Blute für klinische Zwecke quantitativ zu bestimmen.

Das Prinzip der Methode ist folgendes:

Eine genau abgemessene Blutmenge (0,05 ccm) wird in einem Platintiegel eingetrocknet, verascht, mit bestimmten Quantitäten von saurem schwefelsaurem Kalium aufgeschlossen. Das resultierende schwefelsaure Eisenoxyd wird in Wasser gelöst, in einen graduierten Zylinder gebracht, bestimmte Mengen von verdünnter Salzsäure und Rhodanammon hinzugefügt, auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und gut durchgeschüttelt. Die Intensität der resultierenden Färbung wird nun mit einem empirisch geeichten Goldrubinglaskeil verglichen und der Eisengehalt abgelesen.

Es muß ausdrücklich betont werden, daß die Eichung des Keils, von der die Richtigkeit der Bestimmung bei sonst richtiger Ausführung des Verfahrens allein abhängt, nicht etwa auf der Voraussetzung beruhen darf, daß einer doppelt konzentrierten Eisen-

rhodanatlösung derjenige Teil des Keils entsprechen wird, der doppelt so stark gefärbt ist, daß also die Konzentration der Lösung genau parallel den Skalenteilungen des Keils sein wird. Das trifft beim Rhodaneisen, wie ja schon lange bekannt ist, nicht zu, weil, wie Krüß und Morat schon vor längerer Zeit nachgewiesen haben (siehe „Quantitative Spektralanalyse" von Krüß), nur unter ganz bestimmten Gewichtsverhältnissen zwischen Eisen und Rhodan die Verbindung $Fe(CNS)_3 9KCNS$, der ein konstantes Absorptionsverhältnis zukommt, sich bildet. Ebenso wenig darf man eine für den Vergleich mit dem Keil zu starke Eisenrhodanlösung doppelt verdünnen, um die Bestimmung zu ermöglichen, kurz der Keil muß mit verschieden konzentrierten, dem Gehalte nach genau bekannten Eisenlösungen direkt geeicht werden. In dieser Form ist das Verfahren von Jolles vom theoretischen Standpunkte einwandfrei. Wir lassen nun unsere Versuche folgen, die zur Feststellung der praktischen Brauchbarkeit des „klinischen Ferrometers von Jolles" angestellt wurden.

Die erste Aufgabe war, eine sorgfältige, möglichst genaue Eichung des Keiles vorzunehmen. Zu diesem Zwecke stellten wir uns eine Eisenlösung von genau bekanntem Eisengehalte dar, indem wir 3,924 g reinstes Mohrsches Salz ($FeSO_4(NH_4)_2SO_4 + 6H_2O$), entsprechend einem Atomäquivalent Eisen, in 1 l Wasser lösten. Diese Lösung wurde nun zur Kontrolle des Eisengehaltes nach zwei verschiedenen Methoden bestimmt:

I. 100 ccm wurden in einer Platinschale eingedampft und geglüht.

Platinschale . . . . . 36,3035 g
Platinschale + Rückstand 36,3851 g
somit Glührückstand . . 0,0816 g Fe_2O_3 = 0,0556 g Fe,
berechnet in 100 ccm der Lösung . . . . **0,0560 g Fe.**

II. Ein anderer Teil der Lösung wurde mit Salpetersäure in der Wärme oxydiert, mit Ammoniak ausgefällt, das überschüssige Ammoniak durch Kochen verjagt, der Niederschlag von Eisenoxydhydrat getrocknet und geglüht.

Die Bestimmung ergab 0,0556% Eisen.

Mittel aus beiden Bestimmungen:

0,0566 g Fe pro 100 ccm der Lösung,
berechnet: 0,0560 g Fe pro 100 ccm der Lösung.

Wir sind nun bei der Eichung des Keils so vorgegangen, daß wir 0,05 ccm der Lösung genau nach der letzten Vorschrift von Jolles[1]) verarbeiteten, dabei fiel bei sehr oft wiederholten Versuchen die erzielte Farbenintensität der Reaktion mit der Zahl 102 des Keiles des von uns benutzten Fleischlschen Hämometers zusammen. Dieselben Versuche wurden mit 0,04, 0,03, 0,02 und 0,01 ccm wiederholt, wobei entsprechend niedrige Skalenteile gefunden wurden, die jedoch, wie aus obigen Ausführungen im voraus zu erwarten war, nicht in einfachem proportionalem Verhältnisse zu der Konzentration der Lösungen stehen.

Wir möchten hier von der genauen Beschreibung der Methodik, die ja schon oft genug sowohl von Jolles selbst, als auch von den zahlreichen Autoren[2]), die sich mit ihr praktisch beschäftigt haben, eingehend dargelegt wurde, absehen, und teilen nur einige Erfahrungen mit, die wir auf Grund unserer zahlreichen Versuche zu machen Gelegenheit hatten, sowie die Zahlen, die bei der Eichung des Keiles erhalten wurden. Im Anschlusse hieran sei es uns auch gestattet, einige Eisenzahlen anzuführen, die wir bei der Untersuchung des Blutes einiger gesunder Individuen erhalten haben.

Die richtige Ausführung der Methode gelingt anfangs auch geübten Analytikern nicht immer, ebenso kommt es — wenn auch selten — vor, daß auch demjenigen, der die Technik des Verfahrens beherrscht, eine Bestimmung aus ganz unbekannter Ursache fehlschlägt. Bedenkt man, daß man es hier mit unwägbaren Eisenmengen zu tun hat, daß ferner eisenhaltiger Staub, eisenhaltige Reagenzien, und weiter unreines destilliertes Wasser, unvorsichtiges Verdampfen der Blutlösung, zu rasches oder zu langsames Aufschließen des Eisens mit dem Kaliumbisulfat, ungenügendes Glühen derart, daß etwas unverändertes Bisulfat in der Schmelze verbleibt usw., eine Bestimmung leicht vereiteln können, so wird es begreiflich, daß nicht jeder gleich zu richtigen Analysenresultaten kommt. Man muß vielmehr

---

[1]) Zeitschr. f. angew. Mikroskopie u. klin. Chem. 10, 557 und Folia haematologica 1, Nr. 2.

[2]) Bötzelen, Münch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 9. — Oppenheim und Löwenbach, Arch. f. klin. Med. 1903. — Mitulescu, Centralbl. f. inn. Med. 1904. — David, Arch. f. klin. Med. 94.

lange üben und mit der größten Sorgfalt und Umsicht arbeiten, bevor man zu konstanten Zahlen gelangt. Dann kann man sich auch auf die Richtigkeit der erzielten Resultate verlassen.

Es seien hier einige Resultate, die bei der Eichung des Keiles erhalten wurden, angeführt:

I. Je 0,05 ccm der oben erwähnten Eisenlösungen wurden 18mal nach der Methode von Jolles verarbeitet.

Die einzelnen Bestimmungen ergaben folgende Zahlen (Mittel aus 5 bis 9 Ablesungen):

107, 113, 98, 105, 104, 95, 100, 98, 97, 96, 115, 96, 105, 102, 105, 104, 99, 104. Mittel 102.

II. 0,04 ccm ergaben bei 7 Versuchen:
80, 80, 85, 86, 85, 80, 82. Mittel 82.

III. 0,03 ccm ergaben in 5 Versuchen:
65, 67, 67, 62, 64. Mittel 65.

IV. 0,02 ccm ergaben in 6 Versuchen:
46, 45, 45, 46, 48, 46. Mittel 46.

V. 0,01 ccm ergaben in 5 Versuchen:
30, 28, 26, 21, 22. Mittel 26.

Aus diesen Ergebnissen resultiert, daß die Zahlen 102, 82, 65, 46, 26 nicht einfache Multipla sind, wie dies z. B. bei Benützung desselben Keiles für die Hämoglobinbestimmungen der Fall sein würde.

Es ist nun klar, daß auch die entsprechenden Zwischenzahlen, wie 90, 70 usw. nicht etwa durch Interpolation berechnet werden können, sondern ebenfalls durch sorgfältige empirische Eichung ermittelt werden müssen.

Einige Bestimmungen des Bluteisens bei gesunden Männern ergaben folgende Werte:

I. Dr. Z.	0,05 ccm	Blut . . .	Skalazahl	80 = 0,043 % Fe.
	0,04 „	„ . . .	„	70 = 0,045 % Fe.
II. Dr. W.	0,05 „	„ . . .	„	77 = 0,037 % Fe.
III. Dr. Ch.	0,05 „	„ . . .	„	72, 72, 72, 73 = 0,034 % Fe.
IV. Dr. N.	0,05 „	„ . . .	„	85 = 0,047 % Fe.

(Die Bestimmung nach Fleischl-Miescher ergab in diesem letzteren Falle 16,6 g Hämoglobin pro cent.)

Was nun die Ablesungsfehler bei der Eisenbestimmung nach Jolles betrifft, so schwanken nach unseren Beobachtungen dieselben, je nach der Region des Keiles, mit der die Farbe des Reaktionsproduktes zusammenfällt, zwischen 8 bis 20%. Dies dürfte hauptsächlich von der unzweckmäßigen Anordnung der zwei Vergleichszylinder abhängen.[1]) Bekanntlich gilt in der Colorimetrie und Spektrophotometrie die Regel, daß die zu vergleichenden Felder möglichst nahe aneinander liegen müssen, womöglich nur durch eine sehr feine Linie getrennt. Bei unserem Apparate war indessen die Distanz zwischen beiden Röhren ca. 1 cm.

Wir glauben nun, daß diesem Fehler auf zweifache Weise abgeholfen werden könnte. Man verwendet ein der Fleischl-Miescherschen Kammer ähnliches Gefäß, jedoch darf dasselbe in Anbetracht der benutzten Salzsäure nicht aus Metall oder Gummi, sondern muß ganz aus Glas bestehen. In neuerer Zeit werden fabrikmäßig zylindrische Röhren mit der Länge nach eingeschmolzenen dünnen Glasscheidewänden hergestellt: einige Vorversuche lehrten uns, daß aus denselben ein recht geeigneter Behälter für beide zu vergleichende Flüssigkeiten ohne besondere Mühe sich herstellen ließe. Ein solcher Behälter hat die nebenstehend abgebildete Form und beseitigt die Mängel der gegenwärtigen Anordnung.

Ganz ideal ist allerdings diese Vorrichtung nicht, weil die Scheidewand aus technischen Gründen sehr schwer gleichmäßig

[1]) Eine andere Fehlerquelle liegt in der Anwendung des Vergleichkeils. Ein exakter Vergleich zweier Farben ist nur dann möglich, wenn sie auch gleiche Nuancen zeigen, was im allgemeinen nur bei identischen Farbstofflösungen der Fall sein wird; nimmt man aber zum Vergleich einen anderen, wenn auch sehr ähnlich aussehenden Farbstoff oder, was auf dasselbe hinauskommt, einen Keil, so ist dieses Verfahren theoretisch nicht einwandfrei, weil die Absorption im Keil und in der zu untersuchenden gefärbten Lösung, die bei einer bestimmten Dicke vielleicht übereinstimmen, bei anderen Schichtdicken ganz verschieden sein werden, wodurch natürlich der Farbenton ein ganz anderer wird. Praktisch dürfte jedoch dieser Fehler nicht groß sein; wir beabsichtigen übrigens durch Vergleich des Fleischl-Miescherschen Verfahrens mit spektrophotometrischen Blutbestimmungen, diese Verhältnisse eingehend zu prüfen. Da jedoch ein solcher Vergleich für Eisenbestimmungen nicht ausführbar ist, wird es auch kaum gelingen, den erwähnten Fehler zu korrigieren.

dick herzustellen ist, überdies läßt sich der Boden nur annähernd planparallel blasen, immerhin werden durch diese kleinen Abänderungen die Ablesungsfehler wesentlich herabgedrückt.

Einwandfrei wäre eine Vorrichtung, bei der durch Prismen die aus dem Zylinder austretenden Strahlen so abgelenkt werden, daß die Vergleichsfelder scharf, fast ohne Trennung, nebeneinander zu liegen kommen, ähnlich wie es bei den Colorimetern der Fall ist. Wir hoffen, daß durch ein solches Prismensystem sowohl die Bequemlichkeit der Ausführung wie die Genauigkeit der Ablesung gesteigert werden kann.

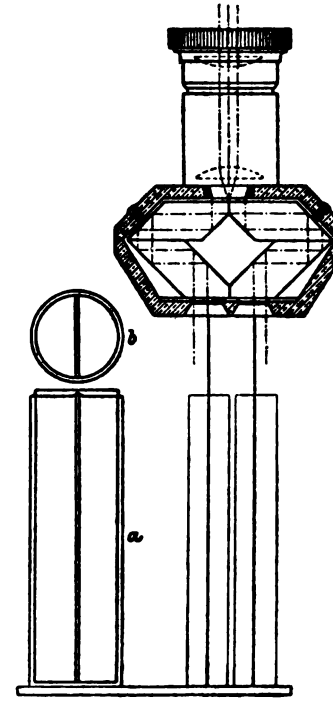


Fig. 1. Fig. 2.

Figur 1 stellt die Glasröhre mit Scheidewand dar. Sie wird direkt auf den Tisch des Fleischlschen Hämometers aufgesetzt.
a) Längsquerschnitt,
b) Draufsicht.

Figur 2 gibt die Ansicht der optischen Einrichtung der genaueren Ausführung. Die Abweichung von der gewöhnlichen Calorimetereinrichtung, nämlich die Vermehrung der Prismen und die verschiedene Anordnung derselben ist bedingt durch den geringen Abstand der Vergleichsröhren.

Zusammenfassung.

1. Von den uns zur Verfügung stehenden Methoden zur Bestimmung des Bluteisens ist die am meisten geübte Methode von A. Jolles in ihrer neuen Ausführungsart sowohl vom theoretischen wie auch vom praktischen Standpunkte für klinische Untersuchungen gut brauchbar, erfordert jedoch eine längere Übung.

2. Die neuere Methode von Jolles ist auf einer rein empirischen Basis aufgebaut; der Nichtproportionalität zwischen Konzentration und Farbenintensität beim Rhodaneisen wird in der Weise genügend Rechnung getragen, daß jeder Keil mit Lösungen von bekanntem Eisengehalte sehr sorgfältig geeicht wird. Allerdings müssen auch alle Konsequenzen aus dieser Nichtproportionalität gezogen werden. Es müssen Interpolationen und Verdünnungen der für Bestimmungen etwa zu konzentrierten

Eisenlösungen ganz vermieden werden; so sind auch die dem Apparate beigegebenen halben Röhren nicht zu verwenden, hingegen ist der Keil in allen Regionen von etwa 5 zu 5, oder solange keine geeignetere Ablesungsvorrichtung beigegeben ist, von 10 zu 10° direkt zu eichen.

3. Durch eine kleine Abänderung der Ablesevorrichtung, durch Einführung der gläsernen Gefäße mit Glasscheidewand oder besser durch Ablenkung mittels eines Prismensystems können wesentlich genauere Resultate erzielt werden.[1])

[1]) Die angegebenen technischen Verbesserungen sowohl bezüglich der Ablesevorrichtung, als auch betreffs der Eichung der Keile, werden in neuester Zeit nach meinen Angaben von der Firma C. Reichert, Wien, die den Jollesschen Ferrometer herstellt, durchgeführt.

Calorimetrische Untersuchungen bei der Eiweißfällung durch Salze der Schwermetalle.

Von

Tullio Gayda.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Turin.)

(Eingegangen am 26. März 1910.)

Mit 3 Figuren im Text.

Die thermochemische, quantitative Analyse der Eiweißfällung durch Metallsalze, die zwar nicht imstande ist, die chemische Affinität der an der Reaktion beteiligten Substanzen zu messen, immerhin aber dazu dient, den Energieunterschied zwischen den Produkten der Reaktion und den ursprünglichen Stoffen zu bestimmen, ist bis jetzt nur Gegenstand vereinzelter Untersuchungen gewesen.

Die erste Arbeit, in der das Verhalten der Eiweißkörper unter dem thermochemischen Gesichtspunkt in Betrachtung gezogen wurde, ist die von Wiedemann und Lüdeking.[1]) Diese Autoren haben sich mit der durch die Hydratation oder die Lösung des Eiweißes und anderer Kolloide bedingten Wärmetönung befaßt und haben gefunden, daß, während im Falle der Hydratation Wärmeentwicklung stattfindet, bei der Lösung eine Wärmeabsorption eintritt. Die Untersuchungen wurden auch auf die Fällung des Eiweißes durch Essigsäure und durch Salpetersäure ausgedehnt, und in beiden Fällen wurde Wärmeentwicklung beobachtet: bei der Fällung von Eiweiß frischer Eier mit Essigsäure erreichte die Wärmetönung + 12,1 bis + 12,4 cal. pro Gramm; bei der Behandlung von trockenem Eiweiß mit

[1]) Wiedemann und Lüdeking, Annal. d. Physik u. Chem., N. F. 25, 145 bis 153, 1885.

Salpetersäure beobachtete man die Entwicklung von + 2,3 bis + 2,8 cal.

Herlitzka[1]) hat calorimetrische Untersuchungen ausgeführt über die Fällung von Eiweißlösungen aus Eiweiß durch gesättigte Ammoniumsulfatlösung oder durch Silbernitratlösungen von verschiedener Konzentration. Bei der Fällung des Eiweißes durch Ammoniumsulfat, bei der nur das Eiweiß und nicht das Salz gefällt wird und die einen durch die einfache Verdünnung mit Wasser umkehrbaren Prozeß darstellt, hat Herlitzka keine Wärmetönung beobachtet. Bei der Fällung des Eiweißes durch Silbernitrat dagegen, bei der der Niederschlag aus Eiweiß und Silber besteht, ist eine Wärmetönung nachweisbar. Diese ist eine Funktion zweier Variablen, d. h. sie ist gleich der Summe zweier Wärmetönungen, die eine durch die Eiweißfällung und die andere durch die Adsorption des Silbersalzes durch das Eiweiß bewirkt. Die Fällungswärme des Eiweißes bei Silbernitratfällung beträgt + 4,1794 cal. pro Gramm, die Adsorptionswärme des Silbers — 16,6727 cal. pro Gramm Silbernitrat und — 3000 cal. pro Mol. Diese letztere hat dasselbe Vorzeichen wie die Lösungswärme des Salzes.

Im Anschluß an die Untersuchungen von Prof. Herlitzka und unter seiner Leitung habe ich calorimetrische Untersuchungen über die Fällung von Eiweißlösungen aus Eiweiß durch Kupfersulfat- und Quecksilberchloridlösungen angestellt.

Untersuchungsmethode.

Ich habe zu meinen calorimetrischen Bestimmungen das Thomsensche Silbercalorimeter mit zwei Gefäßen benutzt. In das gläserne Mischgefäß wurde die Salzlösung gebracht und in das silberne Calorimeter die Eiweißlösung. Bei den Versuchen mit Quecksilberchlorid wurde als Calorimeter ein äußerst dünnwandiger gläserner Becher ohne Rand angewendet; auch die Rührer wurden aus Glas hergestellt. Die Temperatur der beiden Flüssigkeiten wurde durch 2 Beckmannsche, in Hundertstel-Grade geteilte Thermometer ermittelt. Mit Hilfe einer Lupe wurden auch die Tausendstel-Grade abgeschätzt. Die Temperatur der beiden Lösungen und diejenige der Mischung nach

[1]) A. Herlitzka, diese Zeitschr. 11, 481 bis 492, 1908.

stattgefundener Reaktion wurde aus Ablesungen in Zwischenräumen von 1 Minute berechnet.

Die aus Eiweiß hergestellte Eiweißlösung war eine etwa 5%ige.

Die quantitative Bestimmung des Eiweißes geschah durch Alkoholfällung nach der Methode, die Bunge[1]) für das Blutserum angewendet hat. In der Eiweißlösung wurde darauf der Gesamtstickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt, um das Verhältnis zwischen Eiweiß und Stickstoff zu ermitteln.

Nachdem die Mischung der Salz- und und der Eiweißlösungen und die calorimetrische Messung stattgefunden hatte, wurde der Niederschlag der chemischen Analyse unterworfen, indem ich die von Herlitzka angewendete indirekte Methode benutzte, d. h. nur die abfiltrierte Flüssigkeit untersuchte.

Bei bekannten Volumen der in Reaktion tretenden Eiweiß- und Salzlösungen und deren Wassergehalt, wurde durch Bestimmung des prozentigen Wassergehaltes im Filtrate das Gesamtvolumen dieses letzteren berechnet. Im Filtrate wurde dann der Stickstoff nach Kjeldahl und der Salzgehalt bestimmt. Zur Bestimmung des Kupfersulfats wurde die Flüssigkeit in einem Porzellantiegel zur Trockne verdampft, der Rückstand verascht, die Asche in warmer Salpetersäure gelöst, die Lösung passend verdünnt und in einer gewogenen Platinschale elektrolysiert. Zur Bestimmung des Quecksilberchlorids wurden die organischen Stoffe nach Fresenius[2]) oxydiert; das Quecksilber der Flüssigkeit wurde durch Einleiten von Schwefelwasserstoff als Quecksilbersulfid gefällt, in einem Goochtiegel gesammelt und gewogen.

Nachdem somit der Gehalt des Filtrats an Stickstoff und an Salz bekannt war, wurden diese beiden Werte von den entsprechenden bereits bekannten der Eiweiß- resp. Salzlösung abgezogen, und dadurch das Gewicht des Stickstoffs und des Salzes im Niederschlag ermittelt. Da das Verhältnis zwischen Eiweiß und Stickstoff in der Eiweißlösung bekannt war, so konnte man aus dem Stickstoffgehalt im Niederschlag die Menge des gefällten Eiweißes berechnen.

---

[1]) G. Bunge, Zeitschr. f. Biol. 12, 213, 1876.

[2]) Fresenius, Anleitung zur qualitativen chemischen Analyse, 10. Aufl., Braunschweig 1860, S. 307.

Die durch die Mischung der Eiweißlösung mit der Salzlösung erhaltene Wärmetönung ist die algebraische Summe der durch die infolge der Mischung auftretenden Einzelvorgänge hervorgerufenen Wärmetönungen. Um mit den einfachsten Erscheinungen anzufangen, so wird, wenn man die Salzlösung mit der Eiweißlösung vermischt, ein Teil des Salzes, und zwar derjenige, der gelöst bleibt, verdünnt; der Rest wird mit dem Eiweiß gefällt. Es tritt somit eine Verdünnungswärme und eine Fällungswärme auf. Um die Berechnung dieser Wärmetönungen zu vereinfachen, kann man sich vorstellen, daß der Vorgang sich in zwei Phasen abspielt, d. h. daß zunächst aus dem Volumen der reagierenden Salzlösung das gesamte gelöste Salz ausfällt, und daß sich dann in dem Volumen des Filtrats von der Mischung der beiden Lösungen die darin gefundene Salzmenge wieder auflöst. Auf Grund der analytischen Daten muß man also eine Fällungswärme und eine Lösungswärme berechnen.

Sowohl für das Kupfersulfat wie für das Quecksilberchlorid habe ich auf Grund der bei verschiedenen Bestimmungen ermittelten Resultate die Kurve der Wärmetönung konstruiert, die bei der Lösung von 1 g Salz in wechselnden Mengen Wasser auftritt (s. Fig. 1 und 2). Diese Kurve dient auch, wenn man die Vorzeichen umkehrt, für die Fällungswärme. Die verschiedenen Bestimmungen der Lösungswärme wurden in der Weise ausgeführt, daß allemal wechselnde Mengen einer Mutterlösung, deren Lösungswärme bekannt war, auf 400 ccm verdünnt wurden; die algebraische Summe der Lösungswärme und der Verdünnungswärme ergab die gesuchte Lösungswärme. Als Mutterlösung wurde für das Kupfersulfat eine Lösung von 1 Mol $CuSO_4 + 5\,H_2O$ in 400 Mol Wasser benutzt,[1]) für das Quecksilberchlorid eine $^n/_5$-Lösung. Wenn das zu verdünnende Quantum der Mutterlösung sehr klein war, brachte ich die Mutterlösung in Glasröhren, die an einem Ende in eine dünne, leicht zerbrechliche Kugel ausliefen und in das im Calorimeter befindliche Wasser eingetaucht wurden. Um die Mischung herbeizuführen, wurde die Kugel mit einem Glasstäbchen, das sich schon von Anfang an in der Kugel befand, durchgestoßen. Gleich nach dem

[1]) J. Thomsen, Syst. Durchführung thermochem. Untersuchungen. Stuttgart 1906, S. 16.

Durchstoßen der Kugel wurden Rohr und Glasstab aus der Flüssigkeit entfernt.

Nachdem für jede calorimetrische Bestimmung mit Hilfe der so konstruierten Kurve die Lösungs- und die Fällungswärme des

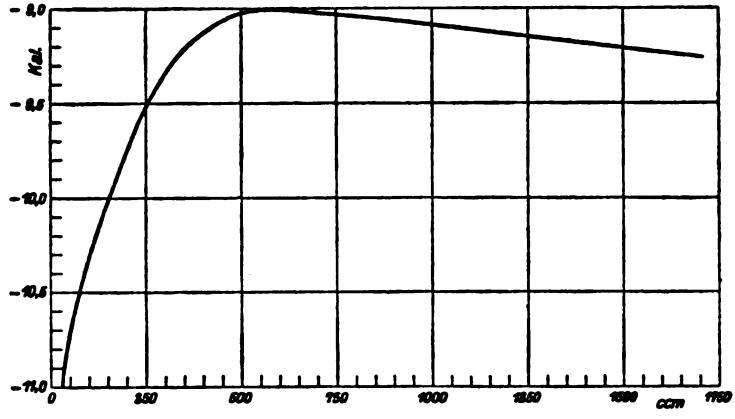


Fig. 1. Kurve der Lösungswärme von 1 g $CuSO_4 + 5H_2O$ in zunehmenden Mengen Wasser. Die Zahlen der Abszissenachse stellen die bei der Lösung angewendeten Kubikzentimeter Wasser vor, diejenigen der Ordinatenachse die entsprechenden Calorien.

Salzes berechnet waren, wurden diese Werte von der bei der Mischung der beiden reagierenden Lösungen beobachteten Wärmetönung abgezogen und so ein Rest erhalten, der der Bildung des Salz-Eiweiß-Komplexes zuzuschreiben war.

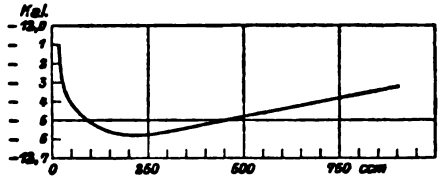


Fig. 2. Kurve der Lösungswärme von 1 g $HgCl_2$ in zunehmenden Mengen Wasser. Die Zahlen der Abszissenachse stellen die bei der Lösung angewendeten Kubikzentimeter Wasser vor, diejenigen der Ordinatenachse die entsprechenden Calorien.

In den Tabellen sind die Resultate der calorimetrischen Bestimmungen und der chemischen Analysen zusammengestellt. Für jede Salzkonzentration wurde die calorimetrische Bestimmung zweimal ausgeführt, und die analytischen Daten sind das Mittel aus zwei übereinstimmenden Analysen.

I. Versuchsreihe.

Eiweißfällung mit Kupfersulfat.

Betrachten wir zunächst die mit Kupfersulfat erhaltenen Resultate (s. Tabelle I).

Tabelle I.

Versuchs-Nr.	Reagierende Lösungen					Reaktionsprodukt					Wärmetönung	Verdünnungs- und Fällungswärme des Kupfersulfats	Wärmetönungsrest
	Eiweißlösung		Kupfersulfatlösung			Filtrat			Niederschlag				
	Volum ccm	Eiweiß g	Konzentration	Volum ccm	Kupfersulfat g	Volum ccm	Eiweiß g	Kupfersulfat g	Eiweiß g	Kupfersulfat g	cal.	cal.	cal.
1	200	9,872	$^n/_{10}$	198,64	4,9608	394,84	3,2436	4,1241	6,6284	0,8367	− 3,08	+ 10,98	− 14,06
2	200	9,872	$^n/_{10}$	199,09	4,9270	394,28	2,6615	4,0098	7,2105	0,9172	− 3,75	+ 11,84	− 15,59
3	200	9,872	$^n/_{20}$	198,78	2,4821	393,40	2,8059	1,7447	7,0661	0,7374	− 3,48	+ 9,11	− 12,59
4	200	9,872	$^n/_{20}$	198,08	2,4734	393,37	2,6408	1,5597	7,2312	0,9137	− 4,27	+ 11,09	− 15,36
5	200	9,872	$^n/_{40}$	198,95	1,2421	393,08	2,8351	0,6014	7,0369	0,6407	− 2,93	+ 6,96	− 9,89
6	200	9,872	$^n/_{40}$	199,08	1,2429	393,37	2,7585	0,5703	7,1135	0,6726	− 3,60	+ 7,25	− 10,85
7	200	10,066	$^n/_{80}$	199,20	0,6218	394,86	3,9769	0,2309	6,0891	0,3909	− 1,80	+ 3,63	− 5,43
8	200	10,066	$^n/_{80}$	199,40	0,6225	395,02	3,8846	0,2626	6,1814	0,3599	− 1,35	+ 3,36	− 4,71
9	200	10,066	$^n/_{160}$	199,20	0,3098	398,55	8,8396	0,2650	1,2264	0,0448	− 0,33	+ 0,35	− 0,68
10	200	10,066	$^n/_{160}$	199,30	0,3100	398,75	8,8443	0,2601	1,2217	0,0499	− 0,42	+ 0,39	− 0,81
11	200	10,066	$^n/_2$	198,99	24,8479	398,99	10,066	24,8479	0	0	− 8,47	+ 8,71	− 17,18
12	200	10,066	$^n/_2$	199,00	24,8491	399	10,066	24,8491	0	0	− 8,42	+ 8,71	− 17,13

Wenn wir bei den verschiedenen calorimetrischen Bestimmungen die beobachteten Wärmetönungsreste vergleichen, d. h. die Reste, die der Bildung des Salz-Eiweiß-Komplexes zuzuschreiben sind, so finden wir, daß diese keineswegs der Menge des gefällten Eiweißes proportional sind.

Die von Herlitzka[1]) in bezug auf die Eiweißfällung durch Silbernitrat aufgestellte Hypothese, daß dieser Wärmetönungsrest eine Funktion zweier Variablen sei, nämlich der Fällungswärme des Eiweißes und der Adsorptionswärme des Salzes durch das Eiweiß, eine Hypothese, die bei der Fällung durch Silbernitrat durch die experimentellen Daten bestätigt wird, kann auch in unserem Falle herangezogen werden, um die Verschiedenheit der Werte für die Wärmetönungsreste zu erklären.

Man kann sich deshalb der von Herlitzka aufgestellten Formel bedienen: $R = cx + c'y$,

[1]) A. Herlitzka, l. c. S. 489.

in der R der beobachtete Wärmetönungsrest ist, c die Fällungswärme von 1 g Eiweiß, x das Gewicht des gefällten Eiweißes, c' die Adsorptionswärme von 1 g Salz durch das Eiweiß und y das Gewicht des gefällten Salzes.

Setzen wir in die obige Gleichung für R, x und y die den Versuchen 2 und 7 entsprechenden Werte ein, so haben wir ein System zweier Gleichungen, aus denen sich ergibt:

$$c = + \ 0{,}4025$$
$$c' = - \ 20{,}1621$$

Wenn wir nun für die einzelnen übrigen calorimetrischen Bestimmungen den Wert R des Wärmetönungsrestes vermittels der obigen Gleichung nach Einsetzung der entsprechenden Werte für c und c' berechnen, so finden wir, wie aus Tabelle II hervorgeht, eine gute Übereinstimmung zwischen den so berechneten und den beobachteten Resten, denn die Unterschiede liegen innerhalb der Fehlergrenzen des Calorimeters.

Tabelle II.

Versuchsnummer	Beobachteter Wärmetönungsrest cal.	Berechneter Wärmetönungsrest cal.
1	− 14,06	− 14,20
2	− 15,59	− 15,59
3	− 12,59	− 12,02
4	− 15,36	− 15,51
5	− 9,89	− 10,08
6	− 10,85	− 10,70
7	− 5,43	− 5,43
8	− 4,71	− 4,77
9	− 0,68	− 0,41
10	− 0,81	− 0,51

In der Tat, bei einer gesamten Wärmekapazität des Calorimeters von 400 bedingt der minimale Irrtum von 0,001° C bei Ablesung der Endtemperatur schon einen Unterschied von 0,4 cal.

Es folgt also hieraus, daß die von Herlitzka für die Fällung des Eiweißes durch Silbernitrat aufgestellte Hypothese, wonach der Wärmetönungsrest gleich der Summe aus der Fällungswärme des Eiweißes und der Adsorptionswärme des Salzes durch das Eiweiß ist, auch auf die Fällung des Eiweißes durch Kupfersulfat angewendet werden kann. Die oben nachgewiesene

Übereinstimmung zwischen den berechneten und beobachteten Werten bestätigt diese Hypothese.

Die von mir gefundene Wärmetönung bei der Fällung des Eiweißes durch Kupfersulfat ist gleich + 0,4025 cal. für 1 g gefälltes Eiweiß, die Adsorptionswärme des Kupfersulfats gleich — 20,1621 cal. für 1 g Kupfersulfat.

Analog dem, was Herlitzka beim Silbernitrat beobachtet hat, habe auch ich die Adsorptionswärme des Kupfersulfats negativ gefunden, d. h. mit demselben Vorzeichen wie die Lösungswärme des wasserhaltigen Salzes.

Ich nehme nun an, daß das Kupfersulfat bei der Fällung des Eiweißes sich mit diesem unter Festhaltung seiner 5 Moleküle Krystallwasser vereinigt, d. h. in derselben Form von wasserhaltigem Salz, in der es sich in der Lösung befindet. Mitscherlich [nach Galeotti[1]) zitiert] behauptet auf Grund seiner Bestimmung des Gehaltes an Cu und H_2SO_4 im gewöhnlichen Kupferalbuminat, daß das ganze Molekül $CuSO_4$ sich mit dem Albumin vereinigt, während Rose, Lieberkühn und Harnack der Meinung sind, daß bei der Bildung des Kupferalbuminats eine Spaltung des Kupfersulfats in CuO und H_2SO_4 eintritt. Galeotti wiederholte die Untersuchungen Mitscherlichs und bestimmte den Gehalt an CuO und H_2SO_4 in einem Niederschlag mit Albumin, dessen Gehalt an S er vorher festgestellt hatte. Die Resultate waren nicht sehr übereinstimmend, er konnte daher die Frage nicht mit Sicherheit entscheiden, pflichtet jedoch der von Mitscherlich ausgesprochenen Meinung bei. Galeotti betrachtet bei der Wiedergabe seiner Analysenresultate das mit Albumin vereinigte Kupfersulfat als wasserfrei; bei meinen Untersuchungen glaube ich dagegen die Annahme machen zu dürfen, daß in dem Niederschlage das Kupfersulfat als wasserhaltiges Salz mit dem Eiweiß vereinigt sei, denn die Fällung geht in Gegenwart von Wasser vor sich, und dieses wird vom Kupfersulfat begierig angezogen.

Wenn diese Annahme richtig ist, so würde, da nach dem weiter oben Gesagten die Lösungswärme des $CuO_4 + 5\,H_2O$ negativ ist, tatsächlich die Adsorptionswärme dasselbe Vorzeichen haben wie die Lösungswärme, und dies würde eine Be-

[1]) G. Galeotti, Zeitschr. f. physiol. Chem. 40, 505, 1904.

stätigung der Hypothese Herlitzkas sein, wonach der Vorgang, den er als Adsorption auffaßt, demjenigen der Lösung analog sein soll.

Nach der oben angeführten Gleichung wäre sowohl die Fällungswärme des Eiweißes als auch die Adsorptionswärme des Kupfersulfats eine einfache lineare Funktion der gefällten Mengen beider Substanzen. Dies war hinsichtlich der Fällungswärme des Eiweißes zu erwarten, da nach meinen wiederholten Versuchen letzterem keine Verdünnungswärme zukommt, wonach bei der Fällungswärme die Menge des Lösungsmittels ohne Einfluß wäre. Bei der Adsorptionswärme des Kupfersulfats ist dagegen zu erwarten, wenn Adsorption und Lösung vergleichbare Vorgänge sein sollen, daß die Menge des Adsorptionsmittels auf die Wärmetönung nicht ohne Einfluß sei, wie die Lösungswärme nicht nur durch die Salzmenge, sondern auch durch diejenige des Lösungsmittels bedingt ist.

Bei der Eiweißfällung durch Silbernitrat nimmt Herlitzka an, daß die Adsorptionswärme der gefällten Salzmenge proportional sei und hebt hervor, daß seine Versuche keinen Anhalt dafür geben, ob die Eiweißmenge einen Einfluß auf die Adsorptionswärme hat, da bei diesen die gefällte Eiweißmenge keinen großen Schwankungen unterliegt, hält aber einen solchen Einfluß für wahrscheinlich. Bei meinen Versuchen mit Kupfersulfat schwankt das Verhältnis zwischen der gefällten Salzmenge und dem Eiweiß in ziemlich weiten Grenzen (ungefähr von 1:8 bis 1:27). Immerhin könnten diese Schwankungsgrenzen noch zu eng sein, um einen eventuellen Einfluß der Eiweißmenge auf die Adsorptionswärme deutlich hervortreten zu lassen.

Bemerkenswert ist das Verhalten der Eiweißlösung zu einer $^n/_2$-Lösung von Kupfersulfat. Wenn man diese beiden Lösungen vermischt, so tritt überhaupt keine Fällung ein, oder besser gesagt, der Niederschlag, der im Anfang entsteht, sobald die Kupfersulfatlösung mit der Eiweißlösung in Berührung kommt, löst sich wieder auf, wenn eine größere Menge der Salzlösung zugefügt wird. Galeotti[1]) beschreibt den Vorgang folgendermaßen: „Gießt man Tropfen um Tropfen einer konzentrierten Lösung von $CuSO_4$ in eine Albuminlösung, so sieht man, wie

[1]) G. Galeotti, l. c. S. 502.

sich zuerst ein dichter Niederschlag bildet, der dann durch Hinzufügen von $CuSO_4$ sich allmählich löst, und man erhält endlich eine sehr klare smaragdgrüne Lösung, die Albumin in großen Mengen enthält."

Nun ist die Wärmetönung bei der Mischung von 200 ccm Eiweißlösung mit 199 ccm $^n/_2$-Kupfersulfatlösung, nach Abzug der Verdünnungswärme des Salzes, — 17,1 cal.

Die Fällung des Albumins durch Kupfersulfat (oder Silbernitrat) ist nach den Untersuchungen von Galeotti[1]) ein umkehrbarer Vorgang, dessen Gleichgewichtsformel

$$L + P \rightleftarrows L$$

ist, worin L die flüssige Phase oder die Lösung bedeutet, P die feste Phase oder den Niederschlag. Dieses Gleichgewicht ist durch das Verhältnis der 3 Komponenten (Wasser, Albumin, Salz) bedingt.

Ähnliche Erscheinungen von Fällung und Wiederauflösung des Niederschlages und ähnliche Gleichgewichte finden sich auch anderwärts, wie z. B. bei der Bildung der komplexen Salze. Bei dieser Bildung findet eine entsprechende Wärmetönung statt.

Wenn wir also jene Wärmetönung von — 17,1 cal. bei der Mischung der $^n/_2$-Kupfersulfatlösung mit der Eiweißlösung erklären wollen, so müssen wir daran denken, daß dieselbe darauf zurückzuführen ist, daß auch in der flüssigen Phase die Bildung eines Komplexes von Salz und Eiweiß stattfindet; natürlich kann man hieraus weder auf die Existenz wirklicher Salz-Eiweißverbindungen, noch auf die Bildung einfacher Adsorptionsverbindungen schließen.

Nach dem über das Gleichgewicht des Systems: Albumin, Kupfersulfat, Wasser Gesagten ist es möglich, daß auch dann, wenn sich ein Niederschlag bildet, in der flüssigen Phase die Bildung eines Komplexes zwischen Salz und Eiweiß mit entsprechender Wärmetönung stattfindet. In diesem Falle würde die Formel zur Berechnung der den einzelnen Reaktionsmomenten zukommenden Wärmetönungen eine verwickeltere Form als die weiter oben angeführte annehmen müssen, aber es fehlen uns die analytischen Daten, um sie aufzustellen.

---

[1]) G. Galeotti, l. c. S. 503.

Tabelle III.

Versuchs-Nr.	Reagierende Lösungen					Reaktionsprodukt					Wärmetönung	Verdünnungs- und Fällungswärme des Quecksilberchlorids	Wärmetönungsrest
	Eiweißlösung		Quecksilberchloridlösung			Filtrat			Niederschlag				
	Volum	Eiweiß	Konzentration	Volum	Quecksilberchlorid	Volum	Eiweiß	Quecksilberchlorid	Eiweiß	Quecksilberchlorid			
	ccm	g		ccm	g	ccm	g	g	g	g	cal.	cal.	cal.
1	200	10,066	1/5	199	10,7938	391,60	0	6,7276	10,066	4,0662	+ 35,91	+ 47,14	− 11,23
2	200	10,066	1/5	199	10,7938	391,66	0	6,7639	10,066	4,0299	+ 34,84	+ 46,69	− 11,85
3	200	10,066	1/10	199	5,3969	393,09	Spur	2,9010	10,066	2,4959	+ 22,08	+ 30,28	− 8,20
4	200	10,066	1/10	199	5,3969	393,04	„	2,9183	10,066	2,4786	+ 22,08	+ 30,07	− 7,99
5	200	10,066	1/50	199	1,0794	397,87	7,7990	0,9409	2,2670	0,1385	+ 11,08	+ 1,80	+ 9,28
6	200	10,066	1/50	199	1,0794	398,96	7,8201	0,9633	2,2469	0,1161	+ 11,59	+ 1,52	+ 10,07
7	200	10,066	1/100	199	0,5397	399,00	8,4842	0,4628	1,5818	0,0769	+ 9,50	+ 1,05	+ 8,45
8	200	10,066	1/100	199	0,5397	399,00	8,4842	0,4788	1,5818	0,0609	+ 10,67	+ 0,85	+ 9,82

II. Versuchsreihe.
Eiweißfällung mit Quecksilberchlorid.

Gehen wir jetzt zur Prüfung der aus den calorimetrischen Bestimmungen bei Mischungen von Quecksilberchloridlösungen mit Eiweißlösungen abgeleiteten Resultate über (s. Tabelle III).

Wenn wir von der Wärmetönung die Verdünnungswärme und die Fällungswärme des Salzes abziehen, so erhalten wir Reste, die einen negativen Wert haben, wenn die verwendete Salzlösung eine größere Konzentration besitzt, während sie bei geringeren Konzentrationen einen positiven Wert haben. Man kann versuchen, zur Erklärung der Verschiedenheit dieser Werte auch hier die von Herlitzka aufgestellte Gleichung anzuwenden, aber in diesem Falle besteht keine Übereinstimmung zwischen den berechneten und den beobachteten Werten.

Was die Fällungswärme des Eiweißes anbetrifft, so kann man, wie schon gesagt, annehmen, daß sie eine lineare Funktion der gefällten Eiweißmenge sei:

was die Adsorptionswärme des Quecksilberchlorids angeht, so wäre es möglich, daß sie in den Grenzen der beobachteten Werte eine Funktion sei nicht nur der gefällten Salzmenge, sondern auch der Eiweißmenge, durch die das Salz adsorbiert ist. Wenn nun die Voraussetzung richtig ist, daß die Wärmetönungsreste gleich der Summe aus der Fällungswärme des Eiweißes und der Adsorptionswärme des Quecksilberchlorids sind, so könnte man folgende Formel aufstellen:

$$R = cx + f(x, y), \tag{1}$$

worin R der beobachtete Wärmetönungsrest ist, x das Gewicht des gefällten Eiweißes, c die Fällungswärme von 1 g Eiweiß, y das Gewicht des gefällten Salzes, $f(x, y)$ die Adsorptionswärme von y durch x, also eine Funktion der beiden Variablen x und y.

Da wir angenommen haben, daß der als Adsorption aufgefaßte Prozeß demjenigen einer Lösung analog sei, d. h. daß die Adsorption von y durch x gleichsam eine Lösung von y in x darstelle, so kann die Funktion $f(x, y)$, analog dem Lösungsvorgange, auch wie folgt geschrieben werden: $f\left(\frac{x}{y}\right)y$.

Die Gleichung (1) kann also geschrieben werden:

$$R = cx + f\left(\frac{x}{y}\right)y.$$

In dieser Gleichung handelt es sich also darum, außer dem Wert von c auch noch den Ausdruck der Funktion $f\left(\frac{x}{y}\right)$ zu finden. Dividieren wir die beiden Seiten der Gleichung durch x, so haben wir:

$$\frac{R}{x} = c + f\left(\frac{x}{y}\right)\frac{y}{x}, \tag{2}$$

worin $\frac{R}{x}$ der Wärmetönungsrest ist, der sich auf 1 g gefälltes Eiweiß bezieht, c die Fällungswärme von 1 g Eiweiß, $f\left(\frac{x}{y}\right)\frac{y}{x}$ die Absorptionswärme von $\frac{y}{x}$ (Gewicht des zusammen mit 1 g Eiweiß gefällten Salzes) durch 1 g Eiweiß. $\frac{R}{x}$ und $\frac{y}{x}$ sind bekannt (s. Tabelle IV), c ist eine Konstante.

Tabelle IV.

Versuchs-nummer	Wert von $\frac{y}{x}$ g	Wert von $\frac{R}{x}$ cal.
1	0,4039	− 1,11
2	0,4003	− 1,17
3	0,2479	− 0,81
4	0,2462	− 0,79
5	0,0611	+ 4,09
6	0,0517	+ 4,48
7	0,0486	+ 5,34
8	0,0385	+ 6,21

Der Zusammenhang, der zwischen $\frac{R}{x}$ und $\frac{y}{x}$ besteht, kann graphisch durch ein Koordinatensystem dargestellt werden. Wir tragen die Werte von $\frac{y}{x}$, die aus den bei den verschiedenen mit Quecksilberchlorid ausgeführten calorimetrischen Bestimmungen erhaltenen Daten abgeleitet werden können, auf die Abszissenachse ab und die entsprechenden, auf dieselbe Weise abgeleiteten Werte von $\frac{R}{x}$ als Ordinaten (s. Fig. 3).

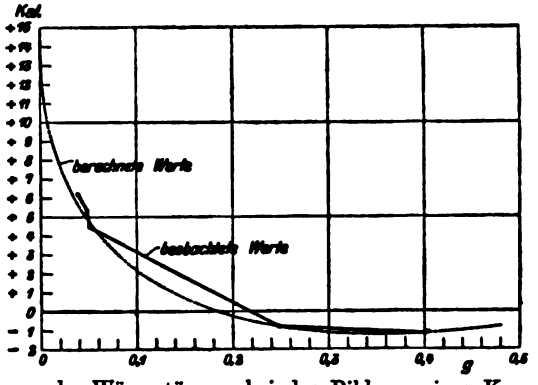


Fig. 3. Kurve der Wärmetönung bei der Bildung eines Komplexes von 1 g Eiweiß mit zunehmenden Mengen Quecksilberchlorid. Die Zahlen der Abszissenachse stellen die gefällten Mengen Quecksilberchlorid vor, diejenigen der Ordinatenachse die entsprechenden Wärmetönungen.

Daraus ergibt sich eine Kurve, die nach dem oben Gesagten die Summe einer Konstanten, d. h. der Fällungswärme von 1 g Eiweiß, und einer Variablen, d. h. der Adsorptionswärme wechselnder Mengen Salz durch 1 g Eiweiß, darstellt. Bei Betrachtung der Kurve sieht man sofort, daß, wenn mit Zunahme der durch 1 g Eiweiß adsorbierten Salzmenge die Ad-

sorptionswärme, wie es wahrscheinlich ist, ihrem absoluten Werte nach zunimmt, sie ein negatives Vorzeichen haben muß, während die Fällungswärme des Eiweißes positiv sein muß.

Versuchen wir nun, die analytische Darstellung dieser Kurve zu finden. Aus ihrer empirischen Analyse ergibt sich, daß die gesuchte Funktion von $\frac{x}{y}$ gleich $-\left(2\sqrt{a\frac{x}{y}} - m\right)$ ist. Nach dem weiter oben Gesagten haben wir diesem Wert ein negatives Vorzeichen gegeben. Die Gleichung (2) erhält also die Form:

$$\frac{R}{x} = c - \left(2\sqrt{a\frac{x}{y}} - m\right)\frac{y}{x} = c - 2\sqrt{a\frac{y}{x}} + m\frac{y}{x}. \qquad (3)$$

Hieraus folgt, daß die Adsorptionswärme von $\frac{y}{x}$ (Gewicht des mit 1 g Eiweiß zusammen gefällten Salzes) gleich der algebraischen Summe einer parabolischen und einer linearen Funktion dieser Größe ist. In der Gleichung (3) haben wir also 3 unbekannte Konstanten: c, a und m. Um die Werte dieser Konstanten zu finden, setzen wir in Gleichung (3) für R, x und y die von den Versuchen 2, 4 und 5 entsprechenden Werte ein und erhalten so ein System dreier Gleichungen, aus denen sich ergibt:

$$c = +14{,}2858,$$
$$a = 676{,}801,$$
$$m = 43{,}6259.$$

Wenn jetzt mit Hilfe der Gleichung (3) die Werte von $\frac{R}{x}$ für die übrigen calorimetrischen Bestimmungen berechnet werden, indem man für c, a und m die gefundenen Werte einsetzt, so erhält man eine gute Übereinstimmung zwischen den so berechneten Werten für die Wärmetönungsreste und den wirklich beobachteten, denn die Unterschiede liegen innerhalb der Fehlergrenzen des Calorimeters, wie aus der Tabelle V hervorgeht.

Tabelle V.

Versuchsnummer	Beobachteter Wert von $\frac{R}{x}$ cal.	Berechneter Wert von $\frac{R}{x}$ cal.
1	− 1,11	− 1,16
2	− 1,17	− 1,17
3	− 0,81	− 0,80
4	− 0,79	− 0,79
5	+ 4,09	+ 4,09
6	+ 4,48	+ 4,71
7	+ 5,34	+ 4,93
8	+ 6,21	+ 5,76

Wie schon erwähnt, stellt in Gleichung (3) der Ausdruck: $-2\sqrt{a\frac{y}{x}}+m\frac{y}{x}$ die Adsorptionswärme wechselnder Salzmengen $\frac{y}{x}$ durch 1 g Eiweiß dar. Für die von mir in Betracht gezogenen Quantitäten $\frac{y}{x}$ hat diese Wärme einen negativen Wert und wächst ihrem absoluten Werte nach mit zunehmendem $\frac{y}{x}$, doch ist hier zu bemerken, daß die Adsorptionswärme, wie sich aus der Formel ergibt, bei weiterem Wachsen von $\frac{y}{x}$ abnehmen und schließlich von den negativen Werten zu positiven übergehen würde. Ob dies wirklich eintritt, läßt sich auf Grund der von mir erhaltenen experimentellen Daten nicht behaupten. Vielleicht gibt es, analog dem Lösungsvorgange, auch bei der Adsorption einen Grenzwert für die Salzmenge, die adsorbiert wird, d. h. es tritt eine Sättigung des Niederschlages am Salz ein, so daß das Verhältnis $\frac{y}{x}$ einen gewissen Wert nicht überschreitet. Die Formel wäre dann nur unterhalb dieser Grenze anwendbar.

Wenn beide Seiten der Gleichung (3) mit x multipliziert werden, so erhält sie die Form:

$$R = cx - 2\sqrt{a\,xy} + my, \qquad (4)$$

die nichts anderes ist als Gleichung (1), in der für $f(x, y)$ sein Wert eingesetzt ist. In Gleichung (4) ist cx die Fällungswärme von x g Eiweiß und $-2\sqrt{a\,xy}+my$ die Adsorptionswärme von y g Quecksilberchlorid durch x g Eiweiß.

Aus dieser Gleichung und der darauf begründeten Berechnung ergibt sich also, daß die Fällungswärme von 1 g Eiweiß

$$c = +\,14{,}2858 \text{ cal.}$$

ist, und die Adsorptionswärme von 1 g Quecksilberchlorid, als Funktion von der gefällten Eiweißmenge, ist

$$c' = -2\sqrt{676{,}801\,x} + 43{,}6259,$$

d. h. eine parabolische Funktion dieser letzteren.

Analog dem, was oben über die Fällung des Eiweißes mit Kupfersulfat gesagt wurde, ist auch bei der Fällung mit Quecksilberchlorid die Möglichkeit vorhanden, daß sich gleichzeitig

mit dem Niederschlage auch ein flüssiger Komplex zwischen Salz und Eiweiß bilde mit entsprechender Wärmetönung, aber es fehlen die Daten, um die Frage in bejahendem oder verneinendem Sinne zu entscheiden.

Wenn wir nun den Wert der bei der Fällung von 1 g Eiweiß durch Quecksilberchlorid auftretenden Wärmetönung mit dem Werte vergleichen, den wir bei der Fällung mit Kupfersulfat erhielten, so finden wir, obwohl beide das positive Vorzeichen haben, daß der erstere bedeutend größer ist als der letztere. Diese Tatsache stimmt mit den Resultaten überein, die Wiedemann und Lüdeking bei ihren Versuchen mit Essigsäure und Salpetersäure, und Herlitzka mit Ammoniumsulfat und Silbernitrat erhielten. In der Tat, bei der Fällung des Eiweißes mit denaturierenden Mitteln, d. h. solchen, bei denen die Fällung durch bloße Verdünnung mit Wasser nicht umkehrbar ist, tritt eine positive Wärmetönung auf, wogegen keinerlei Wärmetönung zum Vorschein kommt, wenn die Fällung durch Verdünnung mit Wasser umkehrbar ist. Die Fällung des Eiweißes durch Kupfersulfat, bei welcher der Niederschlag in einem Überschuß des Fällungsmittels löslich ist, stellt einen Prozeß dar, der in der Mitte steht zwischen den durch Verdünnung mit Wasser reversiblen Fällungen und den Fällungen, die nur bei Hinzufügung eines großen Überschusses von Eiweißlösung umkehrbar sind, wie es der Fall ist bei Fällungen mit Silbernitrat und Quecksilberchlorid; in der Tat ist die mit Kupfersulfat erzielte Fällung, während sie durch bloßes Wasser nicht umkehrbar ist, umkehrbar bei Zusatz eines Überschusses sowohl von Eiweißlösung als auch von Kupfersulfat: dementsprechend haben wir in diesem Falle eine positive, aber schwache Wärmetönung.

Zusammenfassung.

Die Schlußfolgerungen, die sich aus meinen Versuchen und den daran geknüpften Betrachtungen ziehen lassen, sind folgende:

1. Bei der Behandlung einer Eiweißlösung mit Kupfersulfatlösungen von wechselnder Konzentration, wobei sich ein aus Eiweiß und Kupfersulfat bestehender Niederschlag oder ein flüssiger Komplex dieser beiden Bestandteile bilden kann, tritt eine negative Wärmetönung auf.

2. Wenn ein Niederschlag entsteht, so ist diese Wärmetönung gleich der algebraischen Summe aus der Verdünnungswärme und der Fällungswärme des Kupfersulfats und einem negativen Wärmetönungsrest, welcher der Bildung des Niederschlages zuzuschreiben ist. Dieser Rest seinerseits ist gleich der algebraischen Summe aus der Fällungswärme des Eiweißes und der Adsorptionswärme des Kupfersulfats durch das Eiweiß.

3. Die Fällungswärme des Eiweißes bei der Fällung mit Kupfersulfat ist gleich + 0,4025 cal. für 1 g Eiweiß; sie ist unabhängig von dem Volumen der Lösung, aus der das Eiweiß gefällt wird.

4. Die Adsorptionswärme des Kupfersulfats durch das Eiweiß ist gleich — 20,1621 cal. für 1 g Kupfersulfat. Sie hat dasselbe Vorzeichen wie die Lösungswärme; aus den Versuchen geht nicht hervor, ob sie auch von der Eiweißmenge abhängig ist, durch die das Salz adsorbiert wurde.

5. Wenn infolge zu großer Konzentration der Salzlösung kein Niederschlag entsteht, so ist die beobachtete Wärmetönung gleich der algebraischen Summe aus der Verdünnungswärme der Kupfersulfatlösung und einem Wärmetönungsrest, der auch hier negativ ist; dies beweist, daß auch in diesem Falle, obwohl kein Niederschlag entstanden ist, sich ein Komplex von Eiweiß und Kupfersulfat bildet.

6. Ob sich auch, wenn ein Niederschlag entsteht, ein solcher flüssiger Komplex mit entsprechender Wärmetönung bildet, geht aus meinen Untersuchungen nicht hervor.

7. Bei der Behandlung einer Eiweißlösung mit verschieden konzentrierten Quecksilberchloridlösungen, wobei sich stets ein aus Eiweiß und Quecksilberchlorid bestehender Niederschlag bildet, tritt eine positive Wärmetönung auf.

8. Diese Wärmetönung ist gleich der algebraischen Summe aus der Verdünnungswärme und der Fällungswärme des Quecksilberchlorids und einem Wärmetönungsrest, der von der Bildung des Niederschlages herrührt; dieser Rest hat ein negatives Vorzeichen bei den höheren Konzentrationen der Salzlösung, ein positives bei den niedrigeren. Dieser Rest seinerseits ist gleich der algebraischen Summe aus der Fällungswärme des Eiweißes und der Adsorptionswärme des Quecksilberchlorids durch das Eiweiß.

9. Die Fällungswärme des Eiweißes bei der Fällung mit Quecksilberchlorid ist gleich + 14,2858 cal. für 1 g Eiweiß. Auch hier wie bei der Fällung mit Kupfersulfat ist sie unabhängig vom Volumen der Lösung, aus der das Eiweiß gefällt wird.

10. Die Adsorptionswärme des Quecksilberchlorids durch das Eiweiß ist eine Funktion zweier Variablen: der gefällten Eiweißmenge und der mitgefällten Quecksilberchloridmenge. Die Adsorptionswärme von 1 g Quecksilberchlorid, als Funktion der gefällten Eiweißmenge x, ist:

$$c = -2\sqrt{676{,}801\,x} + 43{,}6259,$$

d. h. eine parabolische Funktion dieser letzteren.

11. Ob neben der Fällung von Eiweiß und Quecksilberchlorid auch noch die Bildung eines flüssigen Komplexes von Eiweiß und Salz mit entsprechender Wärmetönung stattfindet, geht aus meinen Untersuchungen nicht hervor.

12. Die Fällungswärme des Eiweißes tritt besonders deutlich hervor, wenn die Fällung nur durch Zufügung eines großen Überschusses von Eiweißlösung umkehrbar ist, ist dagegen sehr gering, wenn die Umkehrung auch durch einen Überschuß von Salz herbeigeführt wird.

Die Beeinflussung der Adsorption durch die Reaktion des Mediums.

Von

L. Michaelis und P. Rona.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städt. Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 29. März 1910.)

Während unserer früheren Untersuchungen war es uns wiederholt begegnet, daß der Grad der Adsorption durch die Reaktion des Mediums beeinflußt wird. So ist Eiweiß durch Kaolin bei saurer Reaktion leicht vollkommen adsorbierbar,[1]) während eine sehr geringe alkalische Reaktion die Adsorption stark beeinträchtigt. Besonders bei den Versuchen über die Adsorption der Fermente fiel es häufig auf, daß die Reaktion von starkem Einfluß war. So wurde z. B. pflanzliche Amylase durch Kaolin wohl bei saurer, nicht aber bei alkalischer Reaktion adsorbiert, und schon die orientierenden Versuche über Adsorption der Amylase durch Tierkohle zeigten ein merkwürdiges Verhalten, indem die Adsorption bei einem bestimmten Grade der Alkalität ein Minimum zu haben schien.[2]) Es schien nun lohnend, diese Verhältnisse näher zu betrachten.

Wenn wir nach den Ursachen fragen, die die Änderung der Adsorption bei Änderung der Reaktion des Mediums hervorrufen, so finden wir, daß diese komplexer Natur sind. Einerseits sind es Einflüsse auf das Adsorbens, andrerseits Einflüsse auf den adsorbierten Stoff.

---

[1]) Vgl. L. Michaelis und P. Rona, diese Zeitschr. 5, 365, 1907.

[2]) L. Michaelis und M. Ehrenreich, diese Zeitschr. 12, 26, 1908. — Vgl. auch die Arbeiten von S. G. Hedin, Über die Hemmung der Enzymwirkung durch Adsorption. Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 497, 1907; 52, 412, 1907; 57, 468, 1908; 60, 85, 364, 1909; 63, 143, 1909; 64, 82, 1910.

Die Einflüsse der Reaktion auf das Adsorbens sind einigermaßen erklärlich, wo es sich um elektrochemische Adsorptionen handelt, also z. B. beim Kaolin, beim Eisenhydroxyd. Nach der von uns entwickelten Theorie haben wir uns als Ursache für die elektronegative Ladung des Kaolins gegen Wasser sein Bestreben, H-Ionen in Lösung zu senden, vorzustellen. Wenn wir somit das Kaolin gleichsam als eine Wasserstoffelektrode auffassen, so muß die Konzentration der Wasserstoffionen der Lösung von Einfluß auf die Größe der Ladung sein, und die Ladung muß mit steigendem Säuregehalt der Lösung zurückgehen. Adsorptionen, die auf der negativen Ladung des Kaolins beruhen, müßten also nach dieser Anschauung bei stark saurer Lösung geringer werden. Umgekehrt muß es mit dem Eisenhydroxyd sein. Dagegen darf sich im allgemeinen bei den mechanisch adsorbierenden Stoffen, wie Kohle, der Einfluß der Reaktion nicht bemerkbar machen, und in der Tat wird auch die Adsorption nicht ionisierter Stoffe, wie Zucker, durch Kohle durch die Gegenwart von Säuren nicht anders beeinflußt als durch die Gegenwart undissoziierter Stoffe (Aceton, Alkohol), und die Säuren wirken auf den Zucker verdrängend nur gemäß ihrer eigenen mechanischen Adsorbierbarkeit.[1])

Der andere Einfluß der Reaktion erstreckt sich auf die adsorbierbare Substanz. Haben wir eine elektrolytisch dissoziierte Substanz vor uns, so ist denkbar, daß ihre Ionen eine andere mechanische Adsorbierbarkeit besitzen als der undissoziierte Stoff; und bei elektrochemischen Adsorptionen ist es wahrscheinlich, daß die Menge der Ionen, die im Gegensatz zu dem nicht dissoziierten Anteil der Substanz adsorbierbar sind, durch die Änderung der Reaktion nach dem Massenwirkungsgesetz verändert und damit die Adsorbierbarkeit der ganzen Substanz verschoben wird.

Eine systematische Untersuchung dieser Verhältnisse könnte daher manches Licht in die Adsorptionen bringen. Es soll deshalb erst einiges tatsächliches Material für diese Frage gesammelt werden.

Zur Untersuchung wurden von Adsorbenzien Kohle als Typus eines mechanischen Adsorbens, Kaolin als Typus eines

[1]) Vgl. P. Rona und L. Michaelis, diese Zeitschr. 16, 489, 1909.

sauren und Eisenhydroxyd als Typus eines im allgemeinen positiven elektrochemischen Adsorbens herangezogen. Adsorbiert wurde Serumalbumin, durch Fällen von Pferdeserum mit Ammonsulfat bis zur Halbsättigung und mehrwöchentliche Dialyse des Filtrats dargestellt, sodann pflanzliche Amylase (Diastase von Grübler), Trypsin (Rhenania). Bei Serumalbumin konnte die Reaktion in extremer Weise variiert werden, bei den Fermenten war dies nur beschränkt möglich, weil zu hohe Acidität oder Alkalität das Ferment zerstört und dem Nachweis entzieht.

Am einfachsten sind daher die Ergebnisse mit Eiweiß zu verstehen, die in Versuch 1 dargestellt sind. Wir entnehmen aus diesem, daß die Adsorption des Eiweißes sowohl durch Kohle wie Kaolin und Eisenhydroxyd von der Reaktion des Mediums abhängig ist. Am vollkommensten ist die Adsorption bei einer gewissen Acidität der Lösung, die in den Tabellen durch den Zusatz der HCl charakterisiert ist. Da das Eiweiß HCl bindet, vor allem aber, weil ein nicht unbeträchtlicher Teil der Säure (oder der Lauge) bei der Adsorption von der Kohle mit betroffen wird, so läßt sich aus diesen zugefügten Mengen HCl nicht ohne weiteres auf die H-Ionenkonzentration der Lösung vor oder nach der Adsorption schließen. Hervorzuheben ist, daß die Tabellen des Versuches 1 nur von dem Vorhandensein eines Maximums der Adsorption Auskunft gegeben. Daß in den beschriebenen Versuchen im Maximum die Adsorption gerade praktisch vollkommen ist, daß sie in einer Reihe scharf auf ein Glied beschränkt, in einer zweiten sich über vier Glieder erstreckt, hängt unter anderem von dem Verhältnis von Adsorbens zu Eiweiß ab. Unsere Reihen sind eben so ausprobiert, daß man das Vorhandensein eines Maximums der Adsorption gut erkenne. Dieses Maximum liegt bei Kohle und Kaolin bei einer leicht sauren Reaktion; beim Eisenhydroxyd ist das nicht so sicher zu definieren; hier scheint ein weiterer Spielraum zu sein, immerhin ist deutlich erkennbar, daß sowohl eine merklich sauere wie alkalische Reaktion die Adsorption hemmt.

Bei Fermenten waren die Versuche weniger einfach, weil die quantitativen Bestimmungen des Ferments mehr Schwierigkeiten bieten als die des Eiweißes. Es ist nicht so sehr der

Anspruch an die Genauigkeit der Fermentbestimmung, der die Versuche erschwert, als eine andere Fehlerquelle, die uns in der ersten Zeit erheblich irre führte. Da die Wirksamkeit der Fermente stark von der Reaktion des Mediums abhängt, müssen die vom Adsorbens abfiltrierten Flüssigkeiten verschiedener Acidität und Alkalität zunächst alle auf eine gleiche Reaktion gebracht werden, um die Bestimung des Fermentgehaltes zu ermöglichen. Eine Neutralisierung gegen Lackmuspapier mit Soda oder Essigsäure erwies sich nun als ungenügend genau. Die Wirksamkeit der Amylase hängt gerade um den Neutralitätspunkt herum sehr stark von der H-Ionenkonzentration der Lösung ab, und ungenaues Neutralisieren ist die Quelle der größten Fehler. An dieser Fehlerquelle ist zweifellos schon manche Fermentbestimmung gescheitert oder illusorisch geworden. Wir verfuhren so, daß die Filtrate zunächst in gewöhnlicher Weise gegen empfindliches Lackmuspapier gut neutralisiert wurden und dann noch mit einem die Neutralität (oder eine dieser nahe liegende, jedenfalls aber exakt definierte Reaktion) herstellenden Regulator in Form eines Phosphatgemisches versetzt wurden. Der Verlauf der Fermentreaktion wurde dann durch ein geeignetes Reagens verfolgt. Für uns handelte es sich nur darum festzustellen, in welchem Röhrchen die Fermentation relativ am schnellsten vor sich ging. Für die Amylase fanden wir auf diese Weise, daß die Adsorption durch Kohle oder Kaolin stark von der Reaktion abhängt, und zwar hat sie ein Minimum bei ungefähr neutraler, vielleicht ganz schwach alkalischer Reaktion. In unseren Protokollen sind diejenigen Versuche nicht mit angeführt, bei denen Amylase bei saurer Reaktion behandelt wird, weil bei saurer Reaktion die Adsorption immer sehr bedeutend ist. Kontrollversuche zeigten, daß die in der Tabelle angewendeten Alkalitäten innerhalb der für den Versuch in Betracht kommenden Zeiten absolut nichts von dem Ferment zerstören. So kann man auch dem Einwand begegnen, daß der mangelnde Fermentgehalt in dem am stärksten alkalischen Filtrat einfach auf einer Zerstörung des Fermentes beruhe.

Beim Trypsin war es wegen der Säureempfindlichkeit des Ferments nicht möglich, durch Änderung der Reaktion ein so großes Gebiet zu umspannen, daß ein Maximum oder Minimum

der Adsorption zu beobachten gewesen wäre. Innerhalb des beobachteten Gebietes nimmt die Adsorbierbarkeit des Trypsins einfach mit steigender Alkalität ab.

Wir haben also 3 Typen des Verhaltens kennen gelernt:

1. Maximum der Adsorption bei einer bestimmten H-Ionenkonzentration (Albumin),

2. Minimum der Adsorption bei einer bestimmten H-Ionenkonzentration (Amylase),

3. stetige Änderung der Adsorption mit der Reaktion ohne erkennbaren Wendepunkt (Trypsin).

Experimenteller Teil.[1])

1. Versuche mit Albumin.

Pferdeserum wurde mit gleichen Teilen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt, filtriert, das Filtrat ca. 14 Tage dialysiert. Von der so gewonnenen Albuminlösung (1,5 %) wurden in den folgenden Adsorptionsversuchen je 9 ccm benutzt.

	a) Adsorption durch Kohle.	b) Adsorption durch Kaolin.
Zu je 9 ccm Albuminlösung 1 ccm hinzugefügt	sodann mit 0,2 g Kohle[2]) kurz geschüttelt, filtriert. Eiweißgehalt des Filtrates:	Eine 2. Probe ebenso mit 1 g Kaolin behandelt. Eiweißgehalt des Filtrates:
$^n/_1$-HCl	++	
$^n/_3$-HCl	++	
$^n/_{10}$-HCl	++	++
$^n/_{30}$-HCl	++	+
$^n/_{60}$-HCl	+	
$^n/_{100}$-HCl	0	0
$^n/_{300}$-HCl	0	
$^n/_{1000}$-HCl	0	++
H_2O	0	++
$^n/_{1000}$-NaOH	Spur	++
$^n/_{100}$-NaOH	++	++
$^n/_{30}$-NaOH	++	++
$^n/_{10}$-NaOH		++
$^n/_3$-NaOH	++	
$^n/_1$-NaOH[3])	++	

Bei Wiederholung dieser Versuche zeigte sich, wie zu erwarten, daß die Zone der totalen Adsorption (in der Tabelle „0“) in ihrer Breite von dem Verhältnis von Albumin zu Kohle stark abhängt, immer jedoch bei leicht saurer Reaktion gelegen ist. Die Definition dieser Reaktion ist jedoch schwer zu geben, da das Adsorbens Säure und

[1]) Die Versuche wurden mannigfach wiederholt und variiert. Hier sind nur einige typische Reihen wiedergegeben.

[2]) Carbo sanguinis pro analysi Merck.

[3]) Bei stärker alkalischer Reaktion gehen Kohle und Kaolin mit durchs Filter.

Lauge mit adsorbiert, und eine Messung der H·-Konzentration mit Konzentrationsketten nicht lohnte, da a priori nicht anzugeben ist, ob der charakterisierende Säuregrad derjenige vor oder nach der Adsorption ist.

c) Eine dritte Probe Albumin (je 9 ccm) wird mit kolloidalem Eisenhydroxyd (20fach verdünnte Lösung des Handels, davon je 5 ccm) behandelt.

Versetzt mit je 1 ccm	Dazu 1 ccm 5%ige Na_2SO_4-Lösung.[1]) Eiweißgehalt des Filtrates
5 n-HCl	+
4 n-HCl	+
3 n-HCl	+
2 n-HCl	+
1 n-HCl	+
$^n/_{10}$-HCl	0
$^n/_{100}$-HCl	0
$^n/_{1000}$-HCl	0
H_2O	0
$^n/_{1000}$-NaOH	0
$^n/_{100}$-NaOH	0
$^n/_{10}$-NaOH	+
$^n/_5$-NaOH	+
$^n/_1$-NaOH	+

2. Versuche mit Amylase.

Eine 1%ige Lösung von Amylase, gut dialysiert, wurde in einer Menge von 9 ccm mit 1 ccm verschiedener Säure und Lauge versetzt und mit 0,2 g Kohle (bzw. 1 g Kaolin) geschüttelt. Die Filtrate wurden auf ihren Fermentgehalt geprüft, indem sie nach sorgfältiger Neutralisation mit stets gleich bemessenen Mengen einer 1%igen Lösung von löslicher Stärke versetzt wurden. Dann wurden die Reagensgläser in ein Wasserbad von 38° gestellt und nun der Ablauf der Fermentwirkung in einer aus der Tabelle leicht ersichtlichen Weise geprüft, indem von Zeit zu Zeit entnommene Pröbchen mit Jod-Jodkalium versetzt wurden. In den ersten Versuchen wurden wir nun gerade hier dadurch groben Täuschungen ausgesetzt, daß die Reaktion während der Fermentwirkung nicht in allen Röhrchen gleichmäßig war; da die Wirkung der Diastase stark mit der H-Ionenkonzentration schwankt, können kleine Ungenauigkeiten hier große Fehler bedingen. Wir halfen uns in folgender Weise: Zunächst wurden die Filtrate gegen gutes Lackmuspapier möglichst genau neutralisiert, dann alle Röhrchen mit 1 ccm eines Phosphatgemisches, bestehend aus 2 Teilen $^n/_7$-Lösung von Na_2HPO_4 und 1 Teil $^n/_7$-NaH_2PO_4 versetzt, wodurch die Reaktion in allen Röhren gleichmäßig gestaltet wurde, und zwar betrug die H-Ionenkonzentration, wie man leicht berechnen kann,[2]) für 37° $1{,}2 \times 10^{-7}$.

[1]) Um überall Koagulation des kolloidalen Eisenhydroxyds hervorzurufen.

[2]) L. Michaelis und P. Rona, diese Zeitschr. 23, 364, 1910.

Aus dem Versuche ergibt sich ein Minimum der Adsorption bei einer eben andeutungsweise alkalischen Reaktion.

a) Amylase-Kohle (je 0,2 g Kohle).

Amylase versetzt mit 1 ccm Sodalösung	Prüfung einer Probe mit JJK-Lösung nach Minuten	
	5	7
$^n/_{300}$	blau	blauviolett
$^n/_{100}$	„	rot
$^n/_{50}$	violett	gelb
$^n/_{25}$	„	„
$^n/_{16}$	blau	„
$^n/_{12}$	„	„
$^n/_{10}$	„	rötlich
$^n/_5$	„	rotviolett

b) Amylase-Kaolin (je 1 g Kaolin).

Lösung von Amylase, versetzt mit je 1 ccm	Prüfung einer Probe mit JJK-Lösung nach Minuten:		
	3	5	10
$^n/_{10}$-HCl	blau	blau	blau
$^n/_{100}$-HCl	„	„	„
$^n/_{1000}$-HCl	„	„	rot
Wasser	blauviolett	rotviolett	hellrot
$^n/_{1000}$-Sodalös.	violett	gelb	gelb
$^n/_{100}$- „	gelb	„	„
$^4/_{100}$ n- „	„	„	„
$^6/_{100}$ n- „	rot	rot	„
$^8/_{100}$ n- „	violett	braungelb	rotgelb
$^n/_{10}$- „	rot[1])	gelb[1])	gelb[1])

Durch besondere Kontrollversuche wurde ferner festgestellt, daß innerhalb des angewandten Aciditäts- und Alkalitätsbereiches während der den Versuchen entsprechenden Zeitdauer keine meßbare Schädigung des Ferments durch die Acidität bzw. Alkalität der Lösung eintritt.

3. Versuche mit Trypsin.

Je 3 ccm einer 0,4%igen Lösung von Trypsin, einige Tage dialysiert, werden mit 3 ccm Säure bzw. Lauge versetzt, mit 0,1 g Kohle bzw. 1 g Kaolin geschüttelt und das Filtrat nach sorgfältiger Neutralisation auf Trypsinwirkung geprüft. Zu diesem Zwecke werden 5 ccm 0,1%iger Caseinlösung in sehr verdünnter Sodalösung mit 3 ccm des Trypsinfiltrates versetzt, in ein Wasserbad von 40° gestellt und von Zeit zu Zeit Pröbchen mit verdünnter Essigsäure versetzt. Die Adsorption des Trypsins ist unter allen Umständen sehr energisch; in Versuchen, in denen eine etwas größere Kohlenmenge als hier angewandt wurde, war die Adsorption stets vollkommen. Bei sehr gering bemessenen Kohlenmengen, wie in dem verzeichneten Versuch, konnte jedoch eine gewisse Abstufung der Adsorption erkannt werden, indem nämlich bei deutlich saurer Reaktion die Adsorption vollkommen war, gegen den Neutralpunkt zu abnahm und bei alkalischer Reaktion noch unvollständiger wurde. Eine Maximum- oder Minimumbildung fand weder bei Kohle noch bei Kaolin statt.

a) Trypsin-Kohle.

10 ccm 0,4%ige Trypsinlösung werden versetzt mit je 3 ccm: a) $^n/_{10}$-HCl, b) $^n/_{100}$-HCl, c) $^n/_{1000}$-HCl, d) Wasser, e) $^n/_{1000}$-Lauge,

[1]) Das Filtrat ist also fermentreicher als im vorhergehenden Röhrchen. Wir glauben indes, daß hier eine Fehlerquelle der Methode vorliegt. Bei so alkalischer Reaktion geht eine erhebliche Menge Kaolin mit durch das Filter und somit auch Ferment. Wir legen jedenfalls auf diesen Wert bei extremer Alkalescenz kein Gewicht.

f) $^n/_{100}$-Lauge, g) $^n/_{10}$-Lauge. Mit 0,1 g Kohle geschüttelt; genau neutralisiert.

Je 3 ccm von der Lösung	werden versetzt mit	Nach 20 Min. mit Essigsäure:	Nach 30 Min. mit Essigsäure:	Nach 45 Min. mit Essigsäure:
a	5 ccm 0,1 %iger Caseinlös.	Trübung	Trübung	Trübung
b	5 „ „ „	„	„	„
c	5 „ „ „	„	„	„
d	5 „ „ „	„	„	„
e	5 „ „ „	„	„	„
f	5 „ „ „	klar	klar	klar
g	5 „ „ „	„	„	„

b) Trypsin-Kaolin.

10 ccm 0,4 %ige Trypsinlösung werden versetzt mit je 3 ccm: a) $^n/_{10}$-HCl, b) $^n/_{100}$-HCl, c) $^n/_{1000}$-HCl, d) Wasser, e) $^n/_{1000}$-Natronlauge. Mit 1 g Kaolin geschüttelt; genau neutralisiert.

Je 3 ccm von der Lösung	werden versetzt mit	Nach $^1/_4$ Std. mit Essigsäure:	Nach $^1/_2$ Std. mit Essigsäure:	Nach 1 Std. mit Essigsäure:	Nach 2 Std. mit Essigsäure:
a	5 ccm 0,1 %ig. Caseinlös.	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung
b	5 „ „ „	„	„	„	„
c	5 „ „ „	„	„	schw. Trüb.	schw. Trüb.
d	5 „ „ „	„	„	„ „	fast klar
e	5 „ „ „	„	„	fast klar	klar

Beitrag zur Kinetik des Absterbens der Bakterien in Sauerstoff verschiedener Konzentration und bei verschiedenen Temperaturen.

Von

Theodor Paul, Gustav Birstein und Anton Reuß.

(Aus dem Laboratorium für angewandte Chemie an der Universität München.)

(Eingegangen am 31. März 1910.)

I. Allgemeines.

Die Vorgänge bei der Einwirkung von Sauerstoff auf die Bakterien. Beziehungen zur Diffusion und zur Adsorption.

Vor einiger Zeit hat der eine von uns gezeigt, daß das Absterben trockener Bakterien in der Luft einen Verlauf nimmt, der durch eine logarithmische Kurve dargestellt werden kann.[1]) Außerdem wurde versucht diese Gesetzmäßigkeit theoretisch zu begründen. Unter der Annahme, daß die Konzentration des Sauerstoffs während des Reaktionsverlaufes infolge der sehr geringen Masse der Bakterien als konstant betrachtet werden kann, ergibt sich aus der stetig abnehmenden „wirksamen Berührungsfläche" für die Reaktionsgeschwindigkeit, das ist in diesem Falle die Geschwindigkeit des Absterbens der Bakterien, die Gleichung einer monomolekularen Reaktion. Auf die Art und Weise, wie der Sauerstoff den Bakterien zugeführt wird, ist in der erwähnten Abhandlung nicht eingegangen worden. Dies war auch nicht besonders nötig, da für die dort angeführten Versuche nur eine Sauerstoffkonzentration, und

[1]) Theodor Paul, Der chemische Reaktionsverlauf beim Absterben trockener Bakterien bei niederen Temperaturen. Diese Zeitschr. 18, 1, 1909.

zwar diejenige der Luft, in Betracht kam. Es genügte vielmehr die Voraussetzung, daß der Vorgang der Sauerstoffzufuhr eine Geschwindigkeit besitze, die im Vergleich zur Geschwindigkeit der Wirkung des zugeführten Sauerstoffs auf die Bakterien sehr groß ist, so daß die letztere allein für die Kinetik der Reaktion maßgebend bleibt. Will man aber die Versuche auch auf verschiedene Sauerstoffkonzentrationen ausdehnen, so ist es notwendig, den Vorgang der Sauerstoffzuführung näher zu untersuchen.

Im allgemeinen haben wir uns die Oberfläche der Bakterienzelle als eine Wand vorzustellen, die für Gase und Flüssigkeiten (Lösungen) mehr oder weniger durchlässig ist.[1]) Bringt man daher eine Bakterienzelle in Berührung mit einem Gas oder mit einer Flüssigkeit, so wird, wenn wir von den Stoffen absehen, für welche die Zellwände ganz oder teilweise undurchlässig sind, eine Diffusion in das Innere der Zelle stattfinden, und es wird nach einer gewissen Zeit im Innern der Zelle die Konzentration des Gases oder eines gelösten Stoffes die gleiche sein wie außerhalb der Zelle.

Für die Kinetik der Sauerstoffwirkung oder der Wirkung von Giften, die in Flüssigkeiten gelöst sind, scheint die Geschwindigkeit des Diffusionsvorganges ohne Einfluß zu sein, wie schon oben angedeutet wurde. Man könnte aber auch im Gegensatz zu der oben gemachten Voraussetzung die Annahme machen, daß die Ursache des logarithmischen Verlaufes des Absterbens der Bakterien auf einen Diffusionsvorgang zurückzuführen sei, gegen dessen Geschwindigkeit die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen Sauerstoff und Bakterien sehr groß ist. Diese Annahme dürfte aus folgenden Gründen nicht stichhaltig sein. Erstens ist der Temperaturkoeffizient der Reaktionsgeschwindigkeit, wie unten gezeigt werden wird, von derselben Größenordnung wie für die meisten chemischen Reaktionen, während er sonst mit dem Temperaturkoeffizienten der Diffusion übereinstimmen müßte. Andererseits handelt es sich bei der Diffusion durch die Bakterienmembran um sehr geringe Entfernungen, so daß sich das Gleichgewicht außerordentlich

[1]) Vgl. Alfred Fischer, Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl., Jena 1903. Abschnitt III: Die Bakterienzelle als osmotisches System.

rasch herstellen kann. Höchstens dürfte die Diffusion während der ersten Minuten auf den Verlauf des Absterbens der Bakterien von Einfluß sein.[1])

Die resultierende Konzentration der wirksamen Stoffe im Innern der Zelle, die wir als wirksame Konzentration bezeichnen wollen, kann von der äußeren Konzentration verschieden sein. Diese Verschiedenheit kann daher rühren, daß wir bei unserer Versuchsanordnung Bakterien benutzten, die an Granaten angetrocknet waren. Sowohl auf den Oberflächen der Granaten, also in unmittelbarer Nähe der angetrockneten Bakterien wie auch auf der Oberfläche der Bakterien selbst können Adsorptionserscheinungen stattfinden, welche die wirksame Konzentration der Gase oder der gelösten Stoffe zu beeinflussen vermögen. Sie kann größer oder kleiner als die Konzentration in der Umgebung sein. So wird z. B. bei gelösten Stoffen die Adsorption und damit auch die Konzentrationsverschiedenheit positiv oder negativ sein, je nachdem die Oberflächenspannung des Lösungsmittels durch den gelösten Stoff kleiner oder größer wird. Aus dieser Möglichkeit ergeben sich einige für die Desinfektionspraxis nicht unbedeutende Folgen. Es ist z. B. der Fall möglich, daß die wässerigen Lösungen zweier Säuren, z. B. von Essigsäure und von Salzsäure, die in bezug auf die Adsorptionsverhältnisse stark voneinander abweichen, auch bei gleichen Wasserstoffionenkonzentrationen verschiedene Desinfektionskonstanten aufweisen werden. Dadurch kann scheinbar der Parallelismus zwischen der Wasserstoffionenkonzentration und der Desinfektionswirkung isohydrischer Lösungen in Frage gestellt werden. Andererseits kann dadurch auch das Verhältnis der Desinfektionswirkung eines Stoffes bei verschiedenen Konzentrationen beeinflußt werden, da die Adsorption im allgemeinen nicht proportional der Konzentration der Lösung ist. Das gleiche gilt auch für die Wirkung eines Desinfektionsmittels bei gleichbleibender Konzentration und bei verschiedenen Temperaturen, da sich die Adsorption mit der Temperatur ändert. Infolgedessen kann sich der beobachtete Temperaturkoeffizient der Desinfektionswirkung aus dem Temperaturkoeffizienten der Adsorptionserscheinungen und

[1]) Vgl. W. Nernst, Theorie der Reaktionsgeschwindigkeit in heterogenen Systemen. Zeitschr. f. physikal. Chem. 47, 52, 1904.

dem Temperaturkoeffizienten der Reaktion zwischen dem Desinfektionsmittel und den Bakterien zusammensetzen.

Um experimentell diese Überlegungen zu prüfen, haben wir eine Reihe von Versuchen mit verschiedenen Stoffen, sowohl in gelöstem wie in gasförmigem Zustande bei verschiedenen Konzentrationen und verschiedenen Temperaturen ausgeführt. Hier soll zunächst über Versuche berichtet werden, die wir mit Sauerstoff bei verschiedenen Konzentrationen und Temperaturen ausführten.

II. Versuchsanordnung.

1. Wahl der Versuchsbakterien und Herstellung der Versuchsgranaten.

Wir benutzten zu diesen Versuchen den Eitererreger Staphylococcus pyogenes aureus, der von Theodor Paul und seinen Mitarbeitern wiederholt bei vergleichenden Desinfektionsversuchen benutzt worden ist, weil diese Bakterienart keine Sporen bildet, und weil die Zahl der Keime, die nach Beendigung des Desinfektionsversuches entwicklungsfähig geblieben sind, mit genügender Genauigkeit festgestellt werden kann. Außerdem besitzen die Staphylokokken eine verhältnismäßig geringe Widerstandsfähigkeit gegen chemische Stoffe, so daß auch die Desinfektionskraft schwächerer Desinfektionsmittel geprüft werden kann. Schließlich können diese Staphylokokken als Typus für eine Reihe von pathogenen Bakterien betrachtet werden, so daß die an ihnen gemachten Erfahrungen sich vielfach direkt auf die praktischen Verhältnisse übertragen lassen.

Die Versuchsanordnung war im allgemeinen dieselbe, die von dem einen von uns in Gemeinschaft mit B. Krönig ausgearbeitet wurde und in der Abhandlung: „Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion“[1]) ausführlich beschrieben worden ist.[2]) Da wir jene Versuchsanordnung im Laufe unserer Versuche in wesentlichen Punkten

[1]) Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten 25, 1, 1897.

[2]) Vgl. auch: Theodor Paul, Entwurf zur einheitlichen Wertbestimmung chemischer Desinfektionsmittel. Berlin 1901. Theodor Paul und Friedrich Prall, Die Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln mit Staphylokokken, die bei der Temperatur der flüssigen Luft aufbewahrt wurden. Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 26, Heft 2, 1907.

verbessert und ergänzt haben, so wollen wir nachstehend unsere Versuchsanordnung in der endgültigen Form nochmals beschreiben.

Die zur Verwendung gelangten Staphylokokken stammten mit Ausnahme derjenigen, die zu den Vorversuchen benutzt wurden, von einer Reinkultur, die aus einem Eiterherd gezüchtet worden war, und uns von Herrn Regierungsrat Prof. Dr. Max Beck im Kaiserlichen Gesundheitsamt in Berlin in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurde. Von dieser Reinkultur wurden 12 Kulturen auf schräg erstarrtem Agarnährboden in Röhrchen angelegt. Nachdem sich die Kulturen nach eintägigem Verweilen im Brutschranke bei 37,5° gut entwickelt hatten, brachten wir zur Entnahme der Kokken in jedes dieser 12 Röhrchen 1 bis 2 ccm steriles Wasser und verteilten die an der Oberfläche des Agarnährbodens befindlichen Bakterien durch vorsichtiges Umrühren mit einem Platindraht im Wasser. Die so erhaltene Bakterienaufschwemmung wurde in eine sterile Porzellanreibschale gegossen und ungefähr 1 Minute lang mit dem Pistille durchgemischt und mit so viel Wasser versetzt, daß das Volum der Flüssigkeit 50 bis 60 ccm betrug. Nachdem sie durch ein steriles doppeltes Filter (Filter Nr. 595 der Firma Carl Schleicher & Schüll in Düren, Rheinland) filtriert worden war, wurde die Flüssigkeit in einen sterilen Erlenmeyerkolben von $1^1/_2$ l gebracht, der 700 g böhmische Tariergranaten von 2,4 bis 2,6 mm Durchmesser enthielt.[1]) Diese Granaten waren durch Behandeln mit konzentrierter Salzsäure in der Wärme und durch sorgfältiges Auswaschen mit Wasser gereinigt und dann durch $^1/_2$stündiges Erhitzen auf 180° sterilisiert worden. Nachdem die Granaten mit der Bakterienaufschwemmung einige Zeit geschüttelt worden waren, gossen wir den Überschuß der Flüssigkeit ab und gaben die feuchten Granaten zur Entfernung der anhängenden Flüssigkeit in eine Glasdoppelschale von 15 cm Durchmesser, deren Boden mit einer dicken Lage von sterilem Filtrierpapier bedeckt war. Nachdem die Granaten einige Minuten lang durch kreisförmige Bewegungen der Schale gemischt worden waren,

[1]) Da die käuflichen Tariergranaten oft erheblich in der Größe voneinander abweichen, wurden sie mit Hilfe von Sieben verschiedener Maschenweite in Gruppen von annähernd gleicher Korngröße getrennt.

bis nur noch wenige an den Schalenwandungen haften blieben, machten sie den Eindruck, als ob sie von einer gleichmäßigen dünnen Feuchtigkeitsschicht bedeckt wären.

Hierauf wurden die Granaten getrocknet. Dazu diente ein rechteckiger Kasten aus Nickelblech von 28 cm Länge, 17 cm Breite und 9 cm Tiefe, der 3 Horden aus verzinktem Eisendraht enthielt. Diese Horden lagen übereinander. Der Abstand von der unteren zur mittleren betrug 4 cm und von der oberen zur mittleren 2,5 cm. An den Seitenwänden war der Kasten mit Löchern versehen, um eine bessere Durchlüftung zu erzielen. Dieser Kasten stand auf 4 Füßen in einer flachen Schale aus Zinkblech, die frisch entwässertes Chlorcalcium enthielt. Das Ganze befand sich in einem großen viereckigen Zinkblechgefäß mit übergreifendem Deckel. Der Kasten und die Einsätze wurden vor dem Einbringen der Granaten durch 1stündiges Erhitzen auf 130° und das Zinkblechgefäß durch Bestreichen mit der Bunsenflamme steril gemacht. In diesem Kasten blieben die Granaten 24 Stunden bei Kellertemperatur. Hierauf wurden sie in sterile Glasröhrchen abgefüllt, die an einer verjüngten Stelle zugeschmolzen wurden. Die zugeschmolzenen Röhrchen, die eine Länge von 12 cm und einen Durchmesser von ungefähr 2 cm hatten, enthielten 400 bis 600 Granaten im Gewichte von 20 bis 30 g. Die Röhrchen wurden deshalb so lang gewählt, damit oberhalb der Granaten genügend freier Raum blieb und beim Zuschmelzen keine erhebliche Temperaturerhöhung der angetrockneten Bakterien stattfand.

2. Die Haltbarkeit der mit Bakterien beschickten Versuchsgranaten bei tiefen Temperaturen. Einschließen der Granaten mit den Versuchsgasen. Zählung der überlebenden Bakterien.

Wie in der oben erwähnten Abhandlung von Th. Paul und Fr. Prall über die Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln gezeigt wurde, kann man die Staphylokokken, die bei Zimmertemperatur verhältnismäßig schnell ihre Keimfähigkeit und ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber chemischen Desinfektionsmitteln ändern, lange Zeit unverändert bei der Temperatur der flüssigen Luft aufbewahren. Man braucht jedoch,

wie bereits in der ebenfalls oben erwähnten Abhandlung von Th. Paul über den chemischen Reaktionsverlauf beim Absterben trockener Bakterien bei niederen Temperaturen mitgeteilt wurde, nicht so tief mit der Temperatur herabzugehen, sondern es genügt schon die Temperatur von ungefähr — 80°, die durch Mischen von fester Kohlensäure mit Äther erhalten werden kann, um die Staphylokokken wochenlang unverändert zu erhalten.

Nachstehend sind die Ergebnisse einiger vergleichender Desinfektionsversuche mit Granate II angeführt, von der ein Teil 39 und 48 Tage in flüssiger Luft, ein anderer ebenso lange in der Kohlensäure-Äther-Mischung aufbewahrt worden war. Bei diesen Versuchen gelangte die als Desinfektionsflüssigkeit benutzte verdünnte Salzsäure immer auf die gleiche Bakterienmenge zur Einwirkung.

Nach 10 Minuten langer Einwirkung von 100-litriger (0,01-normaler) Salzsäure bei + 10° blieben:

1. von den in flüssiger Luft 39 Tage aufbewahrten Bakterien 1028 Stück (Mittelwert aus 6 Bestimmungen),

2. von den in der Kohlensäure-Äther-Mischung 39 Tage aufbewahrten Bakterien 955 Stück (Mittelwert aus 5 Bestimmungen), keimfähig.

Nach 48tägiger Aufbewahrung der Granaten bei jenen tiefen Temperaturen wurden bei der bei + 26° vorgenommenen Desinfektion mit 100-litriger (= 0,01-normaler) Salzsäure folgende Zahlenwerte erhalten:

1. Es blieben von den in flüssiger Luft aufbewahrten Bakterien:

a) nach 16 Minuten langer Desinfektion 14 Stück,

b) nach 20 Minuten langer Desinfektion 6 Stück

keimfähig.

2. Es blieben von den in der Kohlensäure-Äther-Mischung aufbewahrten Bakterien:

a) nach 16 Minuten 22 Stück,

b) nach 20 Minuten 9 Stück

keimfähig.

Berechnet man hieraus mit Hilfe der integrierten Gleichung für die monomolekularen Reaktionen die Desinfektions-

geschwindigkeitskonstante K für $+26°$, so ergeben sich folgende Werte:

K bei Aufbewahrung in flüssiger Luft $= 0{,}212$,

K bei Aufbewahrung in Kohlensäure-Äther-Mischung $= 0{,}223$.

Hieraus folgt, daß innerhalb von 48 Tagen die Widerstandsfähigkeit der in flüssiger Luft aufbewahrten Staphylokokken gegen verdünnte Salzsäure annähernd die gleiche war wie diejenige der in der Kohlensäure-Äther-Mischung aufbewahrten.

Die Mischung von fester Kohlensäure und Äther befand sich in einem doppelwandigen, luftleer gemachten, innen versilberten und außen mit Filz umkleideten Weinholdschen Gefäße. Dieses Gefäß hatte dieselbe Form und dieselben Größenverhältnisse wie dasjenige, das von Th. Paul und Fr. Prall zur Aufbewahrung der Bakterien in flüssiger Luft benutzt und von ihnen beschrieben worden ist. Die Röhrchen mit den Granaten wurden direkt in die Kohlensäure-Äther-Mischung gebracht. Die letztere wurde in der Weise hergestellt, daß man in jenes Gefäß 2 l Äther goß und in diesen allmählich 1 bis 1,5 kg feste Kohlensäure eintrug. Der durch Verdampfen entstandene Kohlensäureverlust betrug während 24 Stunden etwa 300 g. Alle 2 bis 3 Tage mußte demgemäß die verdampfte Kohlensäure ergänzt werden. Der Äther verdampfte in sehr geringen Mengen, so daß man nur in Zwischenräumen von mehreren Wochen etwas Äther zugeben mußte.[1])

Die in der Kohlensäure-Äther-Mischung aufbewahrten Granaten dürfen nicht sofort nach dem Herausnehmen aus der Kältemischung zu den Desinfektionsversuchen benutzt werden, sie müssen vielmehr erst etwa $^1/_2$ Stunde in den geschlossenen Röhrchen auf Zimmertemperatur gebracht werden, da sie sonst bei der Berührung mit Luft infolge des bedeutenden Temperaturunterschiedes Wasserdampf auf ihrer Oberfläche kondensieren.

---

[1]) Die Temperatur der Kohlensäure-Äther-Mischung hält sich so lange in der Nähe von ungefähr $-80°$, als die feste Phase vorhanden ist. Erst wenn dies nicht mehr der Fall ist, steigt die Temperatur ganz allmählich an. Dieses Verhalten des Gemisches erinnert an die Erscheinungen, die für einen kryohydratischen Punkt charakteristisch sind.

Für die Versuche, bei denen wir die Bakterien der Einwirkung verschiedener Gase aussetzten, wurden je 8 Granaten in gläserne Versuchsröhrchen von etwa 7 cm Länge und 8 mm lichter Weite, die etwa 3 ccm faßten, eingetragen. Nach längerem Einleiten des Versuchsgases wurden diese Röhrchen an einer verjüngten Stelle zugeschmolzen. Die Zahl der nach der Einwirkung der Gase keimfähig gebliebenen Bakterien wurde auf folgende Weise bestimmt:

Von den Versuchsgranaten wurden 6 Stück einzeln mit je 4 sterilen Granaten und 3 ccm Wasser in Probierröhrchen mit Watteverschluß 5 Minuten lang mit Hilfe einer Schüttelmaschine, die durch einen Elektromotor angetrieben wurde, geschüttelt. Die Umdrehungszahl des Elektromotors wurde mit Hilfe eines Widerstandes so reguliert, daß die Zahl der Schüttelstöße 700 in der Minute betrug. Darauf wurde der Inhalt jedes Probierröhrchens mit 12 ccm flüssigem, auf $+42°$ abgekühltem Agarnährboden gemischt und das Gemisch in eine Petrische Schale ausgegossen. Nachdem die Platten etwa $1^1/_2$ Tage lang im Brutschrank bei ungefähr $+37{,}5°$ aufbewahrt worden waren, wurden die Kolonien gezählt.

3. Die Vorteile der „Granatenmethode".

Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß die sog. „Granatenmethode", wie sie von B. Krönig und Th. Paul zunächst für flüssige Desinfektionsmittel ausgearbeitet wurde, sich auch für das Studium der Einwirkung von Gasen auf die Bakterien sehr brauchbar erwiesen hat. Ja, es dürfte zurzeit überhaupt keine andere Methode geben, welche die Anstellung quantitativer Desinfektionsversuche mit Gasen ermöglicht. Von verschiedenen Seiten ist diese Granatenmethode als zu umständlich bezeichnet und der älteren Methode der Suspension der Bakterien in der Desinfektionsflüssigkeit der Vorzug gegeben worden. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, daß in letzterem Falle die vor der Anlegung der Kulturen erforderliche Entgiftung der Bakterien stets Schwierigkeiten bereitet. Schließlich sei noch erwähnt, daß die ersten Versuche, welche die Anwendung der physikalisch-chemischen Anschauungen auf die Desinfektionsvorgänge und deren exakte Berechnungen ermöglichten, mit Hilfe der Granatenmethode ausgeführt worden sind.

III. Versuchsergebnisse.

Tabelle I.

(Vorversuche.)

A. Einfluß der Einwirkung von Luft auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate VIa.

(Staphylokokken aus Harn gezüchtet.)

Temperatur, bei der die Luft zur Einwirkung gelangte: + 18,2°.

Einwirkungszeit in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien						Desinfektions-Konstante 60 *K*, bezogen auf 3247 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten					b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte		
38	2361	2822	3225	2304	2304		
93	208	1196	2016	806	665		
	6. Platte	7. Platte	8. Platte	9. Platte	10. Platte		
38	7603	710	3110	947	7084	3247	
93	275	1331	320	—	—	852	0,0243

B. Einfluß der Einwirkung von technischem Sauerstoff (96,2% O + 3,8% N) auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate VIa.

(Staphylokokken aus Harn gezüchtet.)

Temperatur, bei der der technische Sauerstoff zur Einwirkung gelangte: + 18,2°.

Einwirkungszeit in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien						Desinfektions-Konstante 60 *K*, bezogen auf 352 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten					b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte		
38	1145	126	214	218	70		
93	36	9	89	6	11		
	6. Platte	7. Platte	8. Platte	9. Platte	10. Platte		
38	201	588	646	103	212	352	
93	—	1	0	—	—	19	0,0530

Tabelle II.

Einfluß der Einwirkung von Luft auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate VIII.

[Staphylokokken aus einem Furunkel gezüchtet (verschieden von XII).][1])

Temperatur, bei der die Luft zur Einwirkung gelangte: + 37,4°.

[1]) Vgl. die Tabellen VI bis XI.

Einwirkungszeit der Luft in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien							Desinfektions-Konstante 60 K, bezogen auf 5827 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten						b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte	6. Platte		
13,0	4435	5875	3686	6105	6336	8524	5827	
46,5	4544	2406	3968	3648	1830	3059	3243	0,0175
60,5	5100	1200	684	2220	3027	2905	2523	0,0176
71,0	1824	2297	2854	1310	1734	3993	2335	0,0157
88,0	2220	844	812	441	742	1158	1036	0,0230
109,0	1164	1734	1670	780	—	—	1337	0,0153
133,5	1395	1446	1034	857	1126	1932	1298	0,0124
158,0	1004	1561	864	972	1203	940	1091	0,0115
206,0	748	473	390	441	441	441	489	0,0128

Mittelwert von 60 $K = 0{,}0157$.

Tabelle III.

Einfluß der Einwirkung von technischem Sauerstoff (96,2% O + 3,8% N) auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate VIII.

[Staphylokokken aus einem Furunkel gezüchtet (verschieden von XII).]

Temperatur, bei der der technische Sauerstoff zur Einwirkung gelangte: + 37,4°.

Einwirkungszeit des Sauerst. in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien							Desinfektions-Konstante 60 K, bezogen auf 9148 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten						b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3 Platte	4. Platte	5. Platte	6. Platte		
13,0	5011	8294	10483	11347	8294	11462	9148	
22,5	5932	11232	5876	11808	4665	3974	7248	0,0244
36,5	2188	5760	4953	2720	7776	7891	5215	0,0249
46,5	4729	2374	3008	2361	3942	1875	3048	0,0327
60,5	928	4320	4608	3904	3334	1305	3067	0,0232
71,0	1638	3046	1113	2483	2022	2259	2094	0,0254
88,0	672	998	428	646	896	499	690	0,0344
109,0	787	614	1030	646	428	800	718	0,0264
133,5	1248	558	389	844	371	188	600	0,0225
158,0	228	275	625	588	156	303	362	0,0222
206,0	271	44	223	243	188	210	197	0,0198

Mittelwert von 60 $K = 0{,}0256$.

Tabelle IV.

Einfluß der Einwirkung von Luft auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate VIII.

[Staphylokokken aus einem Furunkel gezüchtet (verschieden von XII).]

Temperatur, bei der die Luft zur Einwirkung gelangte: + 18,0°.

Einwirkungszeit der Luft in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien							Desinfektionskonstante 60 K, bezogen auf 4117 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten						b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte	6. Platte		
71,0	3699	3590	5209	2732	3763	5708	4117	
158,0	3955	3027	2496	4332	2144	3392	3224	0,0028
206,0	4121	6009	2105	2803	2038	3840	3486	0,0012
303,0	3500	1657	1932	1292	1984	3219	2264	0,0026
359,0	934	3603	2246	4710	4793	1891	3028	0,0011
549,5	1984	1644	1574	2880	3097	1331	2085	0,0014
813,5	1478	3046	1612	3040	857	838	1812	0,0011

Mittelwert von 60 $K = 0{,}0017$.

Tabelle V.

Einfluß der Einwirkung von technischem Sauerstoff (96,2% O + 3,8% N) auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate VIII.

[Staphylokokken aus einem Furunkel gezüchtet (verschieden von XII).]
Temp., bei der der technische Sauerstoff zur Einwirkung gelangte: + 18,0°.

Einwirkungszeit des Sauerst. in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien							Desinfektionskonstante 60 K, bezogen auf 10690 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten						b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte	6. Platte		
71,0	10713	11750	9964	8179	12844	—	10690	
158,0	7603	11059	3650	2700	9331	6912	6876	0,0051
206,0	10163	3865	4108	7347	6572	4288	6057	0,0042
303,0	4128	2937	1824	3712	3065	4972	3440	0,0049
359,0	5376	3603	4979	6291	4153	3462	4644	0,0013
549,5	4492	2131	3481	1600	—	—	2926	0,0027
813,5	1228	1196	2617	1555	2688	4608	2315	0,0021

Mittelwert von 60 $K = 0{,}0034$.

Tabelle VI.

Einfluß der Einwirkung von Luft auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate XII.

[Staphylokokken aus einem Furunkel gezüchtet (verschieden von VIII).]
Temperatur, bei der die Luft zur Einwirkung gelangte: + 37,4°.

Einwirkungszeit der Luft in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien							Desinfektionskonstante 60 K, bezogen auf 6295 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten						b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte	6. Platte		
6,25	4716	5977	6444	6310	8352	5971	6295	
23,25	3558	3846	4614	4537	3611	2828	3837	0,0291
30,25	3891	2892	2003	3411	3084	2624	2984	0,0311
55,25	3104	2368	2150	2297	—	—	2480	0,0190
94,00	276	212	402	710	398	—	400	0,0313
119,00	672	108	446	627	736	—	518	0,0221
149,75	402	465	540	678	197	408	448	0,0184
174,00	352	211	793	297	272	—	385	0,0335

Mittelwert von 60 $K = 0{,}0264$.

Tabelle VII.

Einfluß der Einwirkung von technischem Sauerstoff (96,2% O + 3,8% N) auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate XII.

[Staphylokokken aus einem Furunkel gezüchtet (verschieden von VIII).]

Temperatur, bei der der technische Sauerstoff zur Einwirkung gelangte: + 37,4°.

Einwirkungszeit des Sauerst. in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien							Desinfektions-Konstante 60 K, bezogen auf 5834 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten						b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte	6. Platte		
6,25	5760	7481	2739	6291	6899	—	5834	
23,25	1619	1753	1574	1792	1664	—	1680	0,0732
30,25	640	1932	1440	—	—	—	1337	0,0613
44,75	1331	985	896	435	940	—	917	0,0480
55,25	704	614	659	889	819	582	711	0,0429
69,75	697	505	441	460	678	480	544	0,0373
77,75	121	325	346	282	—	—	269	0,0429
94,00	287	280	268	241	373	289	290	0,0342
119,00	24	194	128	135	169	154	134	0,0334
149,75	89	116	99	240	151	57	125	0,0267

Mittelwert von 60 $K = 0{,}0444$.

Tabelle VIII.

Einfluß der Einwirkung einer Mischung von Stickstoff und Sauerstoff (54,6% O, 45,4% N) auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate XII.

[Staphylokokken aus einem Furunkel gezüchtet (verschieden von VIII).]

Temperatur, bei der das Sauerstoff-Stickstoff-Gemisch zur Einwirkung gelangte: + 37,4°.

Einwirkungszeit der Mischung von Stickstoff und Sauerstoff in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien							Desinfektions-Konstante 60 K, bezogen auf 4485 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten						b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte	6. Platte		
6,25	3865	5523	3161	4352	5593	4416	4485	
23,25	2035	1984	2476	2137	2374	—	2201	0,0419
30,25	1152	1606	1248	2348	896	—	1450	0,0471
44,75	838	1433	819	966	—	—	1014	0,0386
69,75	512	448	396	274	—	—	408	0,0377
77,75	168	378	215	212	216	216	234	0,0413
94,00	75	130	216	139	180	74	136	0,0398
119,00	266	219	152	188	55	297	196	0,0278
149,75	134	83	100	9	77	57	77	0,0283
174,00	24	11	71	4	36	35	30	0,0299

Mittelwert von 60 $K = 0{,}0369$.

Tabelle IX.

Einfluß der Einwirkung von Luft auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate XII.

[Staphylokokken aus einem Furunkel gezüchtet (verschieden von VIII).]

Temperatur, bei der die Luft zur Einwirkung gelangte: + 24,9°.

Einwirkungszeit der Luft in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien							Desinfektions-Konstante 60 K, bezogen auf 5567 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten						b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte	6. Platte		
5,00	7507	6035	2368	6201	6969	4320	5567	
27,25	6105	4166	3699	3443	1868	4064	3891	0,0161
68,75	2937	2265	2906	2867	736	1395	2184	0,0146
93,25	761	876	2585	934	1273	1504	1322	0,0154
124,75	1644	1228	2016	2009	1568	2112	1763	0,0096
149,75	2067	2233	1644	2291	1497	3014	2124	0,0067
194,75	2528	2201	1286	1369	966	1312	1010	0,0065
244,75	473	1024	1043	1235	1484	2649	1318	0,0060

Mittelwert von 60 $K = 0{,}0107$.

Tabelle X.

Einfluß der Einwirkung von technischem Sauerstoff (96,2% O + 3,8% N) auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate XII.

[Staphylokokken aus einem Furunkel gezüchtet (verschieden von VIII).]

Temperatur, bei der der technische Sauerstoff zur Einwirkung gelangte: + 24,9°.

Einwirkungszeit des Sauerst. in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien							Desinfektions-Konstante 60 K, bezogen auf 5709 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten						b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte	6. Platte		
5,00	5062	4915	5491	6131	8230	4422	5709	
27,25	2182	1619	2476	2675	2393	2368	2286	0,0412
68,75	1580	2259	1305	2432	1894	1504	1829	0,0178
93,25	608	492	844	505	697	524	612	0,0239
124,75	780	377	729	582	1017	672	693	0,0176
149,75	644	1048	1022	766	384	625	748	0,0140
194,75	684	627	435	428	716	249	523	0,0125
244,75	155	316	286	432	348	27	261	0,0129

Mittelwert von 60 $K = 0{,}0200$.

Tabelle XI.

Einfluß der Einwirkung einer Mischung von Stickstoff und Sauerstoff (63,20% O, 36,80% N) auf die Lebensdauer von angetrockneten Staphylokokken.

Staphylokokkengranate XII.

[Staphylokokken aus einem Furunkel gezüchtet (verschieden von VIII).]

Temperatur, bei der das Sauerstoff-Stickstoff-Gemisch zur Einwirkung gelangte: + 24,9°.

Einwirkungszeit der Mischung von Stickstoff und Sauerstoff in Std.	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien							Desinfektions-Konstante 60 K, bezogen auf 5524 als Anfangszahl
	a) auf den einzelnen Platten						b) Mittelzahl	
	1. Platte	2. Platte	3. Platte	4. Platte	5. Platte	6. Platte		
5,00	5248	4012	4256	5798	6553	7276	5524	
27,25	3110	4454	4499	—	3475	3500	3808	0,0167
68,75	1568	940	1644	1440	1587	1171	1392	0,0200
93,25	1158	1030	915	1356	441	825	954	0,0188
124,75	748	1273	825	1382	697	1312	1040	0,0139
149,75	1024	601	1203	748	122	582	713	0,0141
194,75	95	358	1030	640	352	992	578	0,0119
244,75	499	422	390	409	691	806	536	0,0097

Mittelwert von 60 $K = 0{,}0152$.

Die Abtötungsgeschwindigkeit bei Behandlung der Staphylokokken mit Sauerstoff-Stickstoff-Gemischen ist aus den Zahlen der nach verschiedenen Einwirkungszeiten keimfähig gebliebenen Bakterien ersichtlich, die in den Versuchstabellen I bis XI ausführlich mitgeteilt sind. Eine übersichtliche Zusammenstellung der Mittelwerte der aus jenen Zahlen berechneten Konstanten findet sich in der

Tabelle XII.

Zusammenstellung der Versuchsergebnisse der Tab. I bis XI.

Tabelle	Granate	Einwirkungs-Temperatur	Gas	Mittelwert d. Konstanten
I	VIa	+ 18,2°	Luft	0,0243
I	VIa	+ 18,2°	technischer Sauerstoff	0,0530
II	VIII	+ 37,4°	Luft	0,0157
III	VIII	+ 37,4°	technischer Sauerstoff	0,0256
IV	VIII	+ 18,0°	Luft	0,0017
V	VIII	+ 18,0°	technischer Sauerstoff	0,0034
VI	XII	+ 37,4°	Luft	0,0264
VII	XII	+ 37,4°	technischer Sauerstoff	0,0444
VIII	XII	+ 37,4°	45,4% Stickstoff + 54,6% Sauerstoff	0,0369
IX	XII	+ 24,9°	Luft	0,0107
X	XII	+ 24,9°	technischer Sauerstoff	0,0200
XI	XII	+ 24,9°	36,8% Stickstoff + 63,2% Sauerstoff	0,0152

IV. Theoretisches.

1. Die Desinfektionskonstante.

In der letzten Vertikalreihe der Tabellen I bis XI, deren Anordnung durch die Überschriften ohne weiteres verständlich ist, sind unter der Bezeichnung „60 K" die Des-

infektionsgeschwindigkeitskonstanten angeführt, die mit Hilfe der Gleichung für die Geschwindigkeit monomolekularer Reaktionen berechnet sind.

$$\frac{dn}{dt} = k \cdot C \cdot (N - n) \quad \ldots\ldots\ldots \quad (1)$$

Da C, die Konzentration des wirksamen Stoffes, während des ganzen Desinfektionsverlaufes als konstant angenommen werden kann, können wir sie mit k zu einer konstanten K vereinigen, und die Gleichung lautet dann

$$\frac{dn}{dt} = K \cdot (N - n) \quad \ldots\ldots\ldots \quad (2)$$

Sie nimmt integriert die Form an:

$$K = \frac{1}{t} \cdot 2{,}302 \log \frac{N}{N - n} \quad \ldots\ldots \quad (3)$$

In dieser Gleichung bedeutet N die zu Beginn der Reaktion vorhandene Bakterienzahl und n die Zahl der nach t Zeiteinheiten abgestorbenen Bakterien, so daß $N - n$ die Zahl der nach t Zeiteinheiten noch lebenden Bakterien darstellt. Eine Ableitung dieser Gleichung, die auch für den vorliegenden Versuch paßt, findet sich auf Seite 9 der mehrfach erwähnten Abhandlung von Th. Paul über den chemischen Reaktionsverlauf beim Absterben trockener Bakterien bei niederen Temperaturen im 18. Bande dieser Zeitschrift. Da die Abtötung in Anwesenheit gasförmiger Stoffe relativ langsam verläuft, wurde von uns 1 Stunde als Zeiteinheit benutzt. Um aber einen direkten Vergleich mit den Desinfektionsgeschwindigkeiten in flüssigen Lösungen, bei denen in der Regel die Minute als Zeiteinheit gewählt wird, zu ermöglichen, haben wir die berechneten Konstanten als 60 K bezeichnet.

Die Werte der letzteren weichen infolge der unvermeidlichen Versuchsfehler bei den einzelnen Versuchen voneinander oft recht erheblich ab. Sowohl die gegenseitige Abweichung wie diejenige gegen den Mittelwert sind aus den Tabellen ersichtlich. Es läßt sich jedoch nicht verkennen, daß die Einzelwerte der Konstanten häufig einen deutlichen Gang zeigen, indem sie gegen das Ende der Desinfektion abnehmen. Dieser Gang der Konstante scheint desto deutlicher zu werden, je kleiner ihr Wert an und für sich ist. Um dieses Verhalten der Bakterien zu deuten, liegt es nahe, die Annahme zu machen, daß

die bei der Anwendung der monomolekularen Gleichung gemachte Voraussetzung bezüglich der Konstanz von „K" streng genommen nicht zutreffend ist. Diesen Koeffizienten K können wir als ein Verhältnis von 2 Einzelkoeffizienten K' und K'' auffassen, durch welche die desinfizierende Eigenschaft der Stoffe (K') und die Widerstandsfähigkeit der Bakterien (K'') zum Ausdruck gebracht werden, so daß $K = \frac{K'}{K''}$ ist. Es wurde vorausgesetzt und unter diesen Bedingungen auch die Integration durchgeführt, daß K' wie auch K'' von der Zeitdauer des Desinfektionsvorganges unabhängig sind. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß K'' dieser Bedingung nicht entspricht und eine gewisse, wenn auch vielleicht kleine Zunahme von K'' im Laufe der Zeit stattfindet. Näheres über diese Abhängigkeit läßt sich vorläufig nicht sagen. Wenn sich aber die Widerstandsfähigkeit der Bakterien während des Desinfektionsvorganges ändert oder mit anderen Worten, wenn K'' eine Funktion der Zeit t ist, so wird in der integrierten Gleichung eine andere Potenz als t^{-1} erscheinen. In diesem Falle ist die Potenz t^{-1} in der Gleichung (3) streng genommen nicht richtig. Bei größeren Desinfektionsgeschwindigkeiten, wo „t" keine größeren Werte erreicht, bleibt dieser Umstand ohne besonderen Einfluß auf die berechneten Resultate, dagegen kann bei sehr schwach abtötenden Stoffen, bei deren Anwendung die Versuchszeiten sich auf Tage ausdehnen, diese Abweichung in Form einer allmählichen Abnahme der berechneten Werte zutage treten. Die erwähnte Abweichung läßt sich in der Weise erklären, daß schon von Anfang an Bakterien verschiedener Widerstandsfähigkeit vorhanden sind. Es wird sich dann eine Gleichung von folgender Form ergeben:

$$\frac{dn}{dt} = \frac{K'}{K_1''}(N_1 - n_1) + \frac{K'}{K_2''}(N_2 - n_2) + \frac{K'}{K_3''}(N_3 - n_3) + \ldots \quad (4)$$

In dieser Gleichung stellen N_1, N_2 usw. die zu Beginn der Reaktion vorhandene Zahl der Bakterien in einzelne Gruppen von verschiedener Widerstandsfähigkeit zerlegt dar. Ebenso bezeichnen n_1, n_2 usw. die Zahl der nach t Zeiteinheiten abgestorbenen Bakterien in den einzelnen Gruppen. K' ist der Koeffizient, der die spezifische Giftwirkung des Desinfektionsmittels zum Ausdruck bringt. K_1'', K_2'', K_3'' . . . stellen die

Widerstandsfähigkeiten der einzelnen Bakteriengruppen dar. Bei der Integration der obigen Gleichung wurde stillschweigend $K_1'' = K_2'' = K_3''$ usw. $= K''$ gesetzt. Wir kamen dann zu der benutzten Gleichung

$$\frac{dn}{dt} = \frac{K'}{K''}(N-n) \text{ oder } \frac{dn}{dt} = K(N-n),$$

in der

$$N = N_1 + N_2 + N_3 \text{ usw. und } n = n_1 + n_2 + n_3 \text{ usw. ist.}$$

Wenn die Giftwirkung des Desinfektionsmittels oder im vorliegenden Falle K' sehr groß ist, so werden die einzelnen Koeffizienten $\frac{K'}{K_1''}, \frac{K'}{K_2''}, \frac{K'}{K_3''}$ usw. nur wenig voneinander abweichen. Infolgedessen wird, wie schon bemerkt wurde, der Unterschied der Widerstandsfähigkeit der einzelnen Bakterien, die wir gruppenweise geordnet haben, gegenüber dem benutzten Desinfektionsmittel, keine bemerkenswerte Änderung der Desinfektionskonstanten K verursachen. Dies trifft z. B. bei den stark giftig wirkenden wässerigen Lösungen von Quecksilberchlorid zu. So haben wir auf Grund der experimentellen Untersuchungen von B. Krönig und Th. Paul für Quecksilberchlorid folgende Desinfektionskonstanten berechnet, die, wie aus Tabelle XIII hervorgeht, bis zu den Schlußzeiten befriedigend übereinstimmen.[1])

Im vorliegenden Falle, wo es sich um Stoffe von so geringer bakterienschädigender Wirkung wie Sauerstoff-Stickstoff-Gemische handelt, wird sich der Unterschied in der Widerstandsfähigkeit der einzelnen Bakterien mehr geltend machen. Es wird dann das Verhältnis $\frac{K'}{K''}$ bei den größeren Werten von $(N-n)$, d. h. zu den Anfangszeiten einen größeren Wert haben als bei den kleineren Werten von $(N-n)$, die in den späteren Zeitabschnitten der Desinfektionswirkung auftreten.[2])

---

[1]) Vgl. Th. Madsen und Max Nymann, Zur Theorie der Desinfektion. I. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 57, 390, 1907.

[2]) In letzter Zeit hat H. Reichel (diese Zeitschr. 22, 152) versucht, den logarithmischen Verlauf der Desinfektionsvorgänge durch die Annahme einer ununterbrochenen Reihe von individuellen Resistenzunterschieden zu erklären. Wir werden auf diesen Einwand in einer späteren Abhandlung ausführlich zu sprechen kommen.

Tabelle XIII.

Desinfektionskonstanten für eine 256-litrige (= 0,11%ige) wässerige Lösung von Quecksilberchlorid, die bis zum Schluß der Desinfektion keine merkliche Abnahme zeigen.

(Die dieser Berechnung zugrunde liegenden Versuchszahlen wurden der oben erwähnten Abhandlung von B. Krönig und Th. Paul entnommen.) Bei diesem Versuch kam die Quecksilberchloridlösung auf Milzbrandsporen bei + 25° zur Einwirkung.

Dauer der Einwirkung in Minuten	Zahl der keimfähig gebliebenen Bakterien	Desinfektionskonstante	
		K	60 K
15	749		
20	612	0,0404	2,42
25	432	0,0550	3,30
30	306	0,0596	3,58
35	227	0,0596	3,58
40	183	0,0563	3,38
45	151	0,0533	3,20
50	133	0,0493	2,96
60	79	0,0499	2,99
70	16	0,0698	4,19
80	10	0,0617	3,70
90	5	0,0674	4,06
100	3	0,0649	3,89
110	3	0,0591	3,55
120	2	0,0564	3,38

Mittelwert von 60 K = 3,45.

Wie aus den Tabellen I bis XI hervorgeht, können die Werte der einzelnen Desinfektionskonstanten wegen der unvermeidlichen Versuchsfehler nicht scharf bestimmt werden. Infolgedessen ist es nicht ganz leicht, sichere Verhältniszahlen für die Desinfektionskonstanten einzelner Paarwerte der Konzentration abzuleiten. Wir haben deshalb neben den Verhältniszahlen der Mittelwerte auch die Verhältniszahlen derjenigen Konstanten berechnet, die nach Ablauf der gleichen Desinfektionszeit bei Sauerstoff-Stickstoff-Gemischen verschiedener Konzentration ermittelt wurden. Dadurch wird der Einfluß von Störungen zufälliger Natur auf die Verhältniszahlen möglichst ausgeschaltet. Ferner sei bemerkt, daß die Mittelwerte der Konstanten beim gleichen Gasgemisch und bei derselben Temperatur, aber bei Anwendung von Staphylokokken, die von verschiedenen Stämmen herrühren, sehr verschieden sein können. So ist z. B. für die Granate VIa die Konstante bei Behandlung

mit Luft von + 18° zu 0,0243 (Tabelle I) ermittelt worden, während sie bei der Granate VIII nur einen Wert von 0,0017 (Tabelle IV) erreicht. Die Herkunft der zur Herstellung der Granaten VIa und VIII benutzten Staphylokokken ist aus den Versuchstabellen ersichtlich. Ja wir haben solche Verschiedenheiten auch beobachtet, wenn die Staphylokokken von demselben Stamme herrührten, aber zu verschiedenen Zeiten gezüchtet und an die Granaten angetrocknet wurden. Die Tatsache, daß verschiedene Kulturen der gleichen Bakterienart ein abweichendes Verhalten den Desinfektionsmitteln gegenüber zeigen können, ist zwar schon längst bekannt. Immerhin ist es von Interesse, daß durch unsere Versuche auch für das Verhalten zu Gasen ein exakter zahlenmäßiger Beweis erbracht wird.

2. Einfluß der Sauerstoffkonzentration auf die Desinfektionskonstante.

Dieser Tatsache müssen wir auch Rechnung tragen, wenn es sich um die Feststellung des Einflusses der Sauerstoffkonzentration auf die Geschwindigkeit des Absterbens der Staphylokokken handelt. Wir dürfen nur solche Versuchsergebnisse vergleichen, zu denen Granaten benutzt wurden, die gemeinschaftlich hergestellt worden waren. In den Tabellen XIV bis XVIII sind die Konstanten zusammengestellt, die unter Innehaltung dieser Bedingung und bei gleichen Einwirkungszeiten und gleichen Temperaturen, aber bei Anwendung verschiedener Gasgemische erhalten wurden.

Tabelle XIV.

Einfluß der Konzentration des Sauerstoffs auf die Desinfektionkonstante.

(Versuchstabelle Nr. I.)

Granate VI a.

Temperatur, bei der die Gase zur Einwirkung gelangten: + 18,2°.

Zeit der Einwirkung des Gasgemisches in Stunden	K_1 für Luft	K_2 für technischen Sauerstoff (96,2% O + 3,8% N)	$K_1 \frac{96,2}{20,8}$	$K_1 \sqrt{\frac{96,2}{20,8}}$	$\frac{K_2}{K_1 \sqrt{\frac{96,2}{20,8}}}$
1.	2.	3.	4.	5.	6.
93,0	0,024	0,053	0,111	0,052	1,02

Tabelle XV.

Einfluß der Konzentration des Sauerstoffs auf die Desinfektionskonstante.
(Versuchstabellen Nr. II und III.)
Granate VIII.
Temperatur, bei der die Gase zur Einwirkung gelangten: + 37,4°.

Zeit der Einwirkung des Gasgemisches in Stunden	K_1 für Luft	K_2 für technischen Sauerstoff (96,2% O + 3,8% N)	$K_1 \frac{96,2}{20,8}$	$K_1 \sqrt{\frac{96,2}{20,8}}$	$\frac{K_2}{K_1 \sqrt{\frac{96,2}{20,8}}}$
1.	2.	3.	4.	5.	6.
46,5	0,018	0,033	0,083	0,039	0,85
60,5	0,018	0,023	0,083	0,039	0,59
71,0	0,016	0,025	0,074	0,034	0,74
88,0	0,023	0,034	0,106	0,050	0,68
109,0	0,015	0,026	0,069	0,032	0,81
133,5	0,012	0,023	0,056	0,026	0,88
158,0	0,012	0,022	0,056	0,026	0,85
206,0	0,013	0,020	0,060	0,028	0,71
				Mittelwert:	0,76

Tabelle XVI.

Einfluß der Konzentration des Sauerstoffs auf die Desinfektionskonstante.
(Versuchstabellen Nr. IV und V.)
Granate VIII.
Temperatur, bei der die Gase zur Einwirkung gelangten: + 18,0°.

Zeit der Einwirkung des Gasgemisches in Stunden	K_1 für Luft	K_2 für technischen Sauerstoff (96,2% O = 3,8% N)	$K_1 \frac{96,2}{20,8}$	$K_1 \sqrt{\frac{96,2}{20,8}}$	$\frac{K_2}{K_1 \sqrt{\frac{96,2}{20,8}}}$
1.	2.	3.	4.	5.	6.
158,0	0,0028	0,0051	0,0130	0,0060	0,85
206,0	0,0012	0,0042	0,0056	0,0026	1,62
303,0	0,0026	0,0049	0,0120	0,0056	0,88
359,0	0,0011	0,0013	0,0051	0,0024	0,54
549,0	0,0014	0,0027	0,0065	0,0030	0,90
813,5	0,0011	0,0021	0,0051	0,0024	0,88
				Mittelwert:	0,95

In der Vertikalreihe 4 der Tabellen XIV bis XVI sind die Produkte aus den Konstanten, die für die Luft erhalten wurden, mit dem Verhältnis der Sauerstoffkonzentration im technischen Sauerstoff und in der Luft $\frac{96,2}{20,8}$ sowie in der Vertikalreihe 5 die Produkte aus den Konstanten für Luft und den Quadratwurzeln aus diesem Sauerstoffkonzentrationsverhältnis $\sqrt{\frac{96,2}{20,8}}$ aufgeführt.

Tabelle XVII.

Einfluß der Konzentration des Sauerstoffs auf die Desinfektionskonstante.
(Versuchstabellen Nr. VI, VII, VIII.)
Granate XII. Temperatur, bei der die Gase zur Einwirkung gelangten: + 37,4°.

Zeit der Einwirkung des Gasgemisches in Stunden	K_1 für Luft	K_2 für Sauerstoff-Stickstoffgemisch 54,6% O; 45,4% N	K_3 für technischen Sauerstoff 96,2% O; 3,8% N	$K_1\sqrt{\frac{54,6}{20,8}}$	$K_1\frac{96,2}{20,8}$	$K_1\sqrt{\frac{54,6}{20,8}}$	$K_1\sqrt{\frac{96,2}{20,8}}$	$\frac{K_2}{K_1\sqrt{\frac{54,6}{20,8}}}$	$\frac{K_3}{K_1\sqrt{\frac{96,2}{20,8}}}$
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
23,25	0,029	0,042	0,073	0,076	0,134	0,047	0,062	0,89	1,18
30,25	0,031	0,047	0,061	0,081	0,143	0,050	0,067	0,94	0,91
55,25	0,019	—	0,043	—	0,088	—	0,041	—	1,05
94,00	0,031	0,040	0,034	0,081	0,143	0,050	0,067	0,80	0,51
119,00	0,022	0,028	0,033	0,058	0,102	0,036	0,047	0,78	0,70
149,75	0,018	0,028	0,027	0,047	0,083	0,029	0,039	0,97	0,69
174,00	0,034	0,030	—	0,089	—	0,055	—	0,54	—
							Mittelwert:	0,82	0,84

Tabelle XVIII.

Einfluß der Konzentration des Sauerstoffs auf die Desinfektionskonstante.
(Versuchstabellen Nr. IX, X, XI.)
Granate XII. Temperatur, bei der die Gase zur Einwirkung gelangten: + 24,9°.

Zeit der Einwirkung des Gasgemisches in Stunden	K_1 für Luft	K_2 für Sauerstoff-Stickstoffgemisch 63,2% O; 36,8% N	K_3 für technischen Sauerstoff 96,2% O; 3,8% N	$K_1\sqrt{\frac{63,2}{20,8}}$	$K_1\frac{96,2}{20,8}$	$K_1\sqrt{\frac{63,2}{20,8}}$	$K_1\sqrt{\frac{96,2}{20,8}}$	$\frac{K_2}{K_1\sqrt{\frac{63,2}{20,8}}}$	$\frac{K_3}{K_1\sqrt{\frac{96,2}{20,8}}}$
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9	10.
27,25	0,016	0,017	0,041	0,049	0,074	0,028	0,034	0,61	1,21
68,75	0,015	0,020	0,018	0,046	0,069	0,026	0,032	0,77	0,56
93,25	0,015	0,019	0,024	0,046	0,069	0,026	0,032	0,73	0,75
124,75	0,0096	0,014	0,017	0,029	0,044	0,017	0,021	0,82	0,81
149,75	0,0067	0,014	0,014	0,020	0,031	0,012	0,014	1,67	1,00
194,75	0,0065	0,012	0,013	0,020	0,030	0,011	0,014	1,09	0,93
244,75	0,0060	0,0097	0,013	0,018	0,028	0,010	0,013	0,97	1,00
							Mittelwert:	0,95	0,89

In der Vertikalreihe 6 befinden sich die Quotienten aus den Konstanten für technischen Sauerstoff und den letztgenannten Produkten $\frac{K_2}{K_1\sqrt{\frac{96{,}2}{20{,}8}}}$. In den Tabellen XVII und XVIII finden sich auch noch die entsprechenden Werte für die Sauerstoff-Stickstoffmischungen 54,6% O + 45,4% N und 63,2% O + 36,8% N. Betrachten wir die Tabellen XIV bis XVI, so ergibt sich, daß, abgesehen von einzelnen Ausnahmen, nicht die Werte der Vertikalreihe 4 mit den beobachteten Konstanten des technischen Sauerstoffs (Vertikalreihe 3) übereinstimmen, sondern die Werte der Vertikalreihe 5. Diese Übereinstimmung und die durch die unvermeidlichen Versuchsfehler bedingten Abweichungen werden am besten aus den Vertikalreihen 6 ersichtlich, die die Quotienten dieser Größen enthalten. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei den Zahlen der Tabellen XVII und XVIII, die die Ergebnisse der Versuche mit 3 Gasgemischen enthalten. Auch hier fallen die Werte der Vertikalreihen 3 und 4 mit denjenigen der Reihen 7 und 8 annähernd zusammen, und die Werte der Vertikalreihen 9 und 10 liegen in der Nähe von 1. **Demnach verhalten sich die Desinfektionskonstanten von Sauerstoff-Stickstoffgemischen wie die Quadratwurzeln aus den Sauerstoffkonzentrationen.** Nach der Grundgleichung $\frac{dn}{dt} = k \cdot C \cdot (N - n)$ hätte man eine Proportionalität zwischen den Konstanten und den Sauerstoffkonzentrationen erwarten müssen.

Es folgt daraus, daß die an der Oberfläche der Bakterien wirksame Sauerstoffkonzentration nicht der Sauerstoffkonzentration des benutzten Gasgemisches gleich, sondern proportional der Quadratwurzel der letzteren ist. Über den absoluten Wert der wirksamen Konzentrationen des Sauerstoffs können wir von diesen Versuchen keinen Aufschluß erwarten, sondern wir erfahren nur, in welchem Verhältnis sie bei Anwendung verschiedener Gasgemische stehen. Dadurch wird obige Gleichung etwas modifiziert.

Es ist anstatt der Konzentration „C“ des wirksamen Stoffes allgemein eine Funktion $f(C)$ zu setzen. In unserem Falle hat sie die Form:

$$f(C) = \sqrt{C}.$$

Unsere kinetischen Messungen führen zu der Annahme, daß das Auftreten dieser Funktion nicht durch die Reaktion zwischen den Bakterien und dem Sauerstoff verursacht wird, sondern durch einen zweiten, getrennt verlaufenden physikalisch-chemischen Vorgang, der von der eigentlichen Desinfektionswirkung des Sauerstoffs unabhängig ist, und der im Hinblick auf den logarithmischen Verlauf der Abtötungskurve eine sehr große Geschwindigkeit besitzen muß. Für die Natur dieses Vorganges kommen zwei Möglichkeiten in Betracht. Erstens könnte es sich dabei um einen Oxydationsvorgang handeln, bei dem ein Gleichgewicht

$$O_2 \rightleftarrows 2O$$

in Frage kommt. Zweitens lassen sich für die Erklärung dieses Vorgangs auch die Adsorptionserscheinungen heranziehen.

3. Analogie zwischen der Abtötung der Bakterien durch Sauerstoff und der chemischen Oxydationswirkung des gasförmigen Sauerstoffs.

Wir wollen zunächst den Fall näher erörtern, daß der atomistische Sauerstoff in Frage käme. Zu einem ähnlichen Resultate gelangte Thomas Ewan[1]) bei der Untersuchung der Oxydationsgeschwindigkeit von Phosphor, Schwefel und Aldehyd, wobei er feststellte, daß diese Geschwindigkeit innerhalb gewisser Druckgrenzen sehr nahe der Quadratwurzel der Sauerstoffkonzentration proportional ist. Diese Tatsache wurde als Wirkung von in Atome oder Ionen gespaltenen Sauerstoffs aufgefaßt und bildete die Grundlage der theoretischen Anschauungen von van't Hoff über die langsame Oxydation des Phosphors und die damit in Verbindung stehende Frage über die Aktivierung des Sauerstoffs. Van't Hoff nimmt an, daß die Spaltung der Sauerstoffmolekeln in Atome oder Ionen nicht eine Folgeerscheinung der Oxydation ist, sondern daß in jedem gasförmigen Sauerstoff eine gewisse Anzahl von Sauerstoffatomen oder -Ionen vorhanden ist. Wenn nur diese Sauerstoffatome oder -Ionen für die Oxydation des Phosphors in Frage kommen,

[1]) Über die Oxydationsgeschwindigkeit von Phosphor, Schwefel und Aldehyd. Zeitschr. f. physikal. Chem. 16, 315, 1895. Vgl. auch J. H. van't Hoff, Über die Menge und die Natur des sog. Ozons, das sich bei langsamer Oxydation des Phosphors bildet. Ebenda 16, 411, 1895.

so ist auch nur ihre Konzentration für die Kinetik des Oxydationsvorganges maßgebend. Es handelt sich also um das Gleichgewicht

$$O_2 \rightleftarrows 2O,$$

für das nach dem Massenwirkungsgesetz folgende Beziehung zwischen der Konzentration des Sauerstoffgases C_{O_2} und der Konzentration der Sauerstoffatome (Ionen) C_{O_2} besteht: $C_O = K\sqrt{C_{O_2}}$. Demnach werden sich die Oxydationsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen wie die Quadratwurzeln aus diesen Konzentrationen verhalten. In dieser Hinsicht würden unsere Versuche als Unterstützung der van't Hoffschen Ansichten gegenüber denjenigen von Engler und Weißberg[1]) gelten.

4. Die Adsorption als kinetischer Faktor bei der Abtötung der Bakterien durch Sauerstoff.

Wir versuchten ferner unsere Versuchsresultate mit Hilfe von Adsorptionsgleichgewichten zu deuten. Formell sind wir dazu wegen der von uns beobachteten Abweichung vom Henryschen Gesetz berechtigt, wonach die Konzentration des absorbierten Gases seinem Partialdruck proportional ist. Diese Abweichung findet im allgemeinen bei allen Adsorptionsgleichgewichten statt, sowohl bei Gasen wie bei Flüssigkeiten. Im vorliegenden Falle muß man diese Möglichkeit des Auftretens von Adsorptionserscheinungen um so mehr in Betracht ziehen, als die Berührungsfläche zwischen den Bakterien und dem Gas eine Phasengrenze darstellt, an der die Oberflächenspannungskräfte zur Wirkung gelangen können.[2]) Unter dem Einfluß dieser Kräfte kann die Konzentration des Gases an der Grenzfläche eine andere sein als in der Umgebung. Für das Gleichgewicht zwischen einem einheitlichen Gas und einem

[1]) Kritische Studien über die Vorgänge der Autooxydation. Braunschweig 1904. Vgl. auch C. Engler und R. O. Herzog, Zur chemischen Erkenntnis biologischer Oxydationsreaktionen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 327, 1909.

[2]) Die Heranziehung der Adsorption zur Erklärung der Oxydationsversuche mit Phosphor von Th. Ewan ist nicht statthaft, weil die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Verdampfungsgeschwindigkeit des Phosphors nachgewiesen wurde. Die Reaktion spielt sich demnach wahrscheinlich zwischen Phosphordampf und Sauerstoff ab.

festen adsorbierenden Stoff (Adsorbens) ist die Gleichung der sog. Adsorptionsisotherme gültig, die folgende Form hat:

$$C_1 = \alpha \cdot C_2^{\frac{1}{n}} \quad \ldots\ldots\ldots \quad (5)$$

In dieser Gleichung bedeutet C_1 eine der an der Oberflächeneinheit des festen Stoffes vorhandenen Gasmenge proportionale Größe, C_2 die Konzentration des Gases in der Umgebung, α den Adsorptionskoeffizienten und $\frac{1}{n}$ den Adsorptionsexponenten.

Die in dieser Gleichung vorkommende Größe α ist eine sowohl von der Natur des Gases, wie des festen Stoffes abhängige Konstante und wird in der Regel bei demselben festen Stoff um so größer, je stärker das Gas kompressibel ist, oder, was auf dasselbe hinauskommt, je näher das Gas an seiner Verflüssigungsgrenze liegt. Der Adsorptionsexponent $\frac{1}{n}$ ist dagegen eine Größe, die für den Prozeß der Adsorption spezifisch ist. Er ist von der Natur des Adsorbens und des adsorbierten Gases in weiten Grenzen unabhängig und besitzt für viele Gase einen Wert von etwa 0,5, wobei aber auch Werte von 0,2 bis 1 vorkommen. Jene Gleichung, die zunächst nur für einheitliche Stoffe abgeleitet wurde, läßt sich auch in unserem Falle, wo es sich um Gasgemische handelt, anwenden. Es ist allerdings nicht ausgeschlossen, daß der Adsorptionskoeffizient α für ein Gas im Gemisch mit anderen Gasen einen anderen Wert hat, als wenn das Gas allein vorliegt. Wahrscheinlich sind aber diese Abweichungen nicht so groß, daß dadurch die Reihenfolge der Werte von α für verschiedene Gase geändert wird. Das läßt sich aus den Versuchen von Joulin über die Adsorption von Gemischen zweier Gase schließen. Es wurden immer beide Gase adsorbiert, und zwar wurde hierbei das Gas stärker adsorbiert, das für sich allein stärker adsorbiert wurde. Bei Sauerstoff-Stickstoff-Gemischen wird der Sauerstoff, der eine höhere kritische Temperatur besitzt (— 118°) als Stickstoff (— 146°), stärker adsorbiert.[1])

[1]) Vgl. Herbert Freundlich, Kapillarchemie. Leipzig 1909, S. 91 ff.

Es kann sich deshalb an der Oberfläche der Bakterien ein Gasgemisch ausbilden, in dem sich Sauerstoff und Stickstoff in einem anderen Verhältnis befinden wie in der umgebenden Gasatmosphäre.

Nehmen wir, was wahrscheinlich ist, an, daß sich der Adsorptionskoeffizient des Sauerstoffs α mit der prozentischen Zusammensetzung des Gasgemisches nur wenig ändert und als konstant angesehen werden kann, so ergibt sich, das sich die aus drei Gasgemischen, in denen der Sauerstoffgehalt im Verhältnis von $p:q:r$ steht, adsorbierten Sauerstoffmengen wie

$$\sqrt[n]{p} : \sqrt[n]{q} : \sqrt[n]{r}$$

verhalten werden. Berücksichtigen wir ferner, daß die adsorbierten Sauerstoffmengen allein die Abtötung der Bakterien verursachen, und daß die Geschwindigkeit der Abtötung der adsorbierten Sauerstoffmenge proportional ist, so ergibt sich für das Verhältnis der Desinfektionskonstanten

$$K_1 : K_2 : K_3$$

folgender Ausdruck:

$$K_1 : K_2 : K_3 = \sqrt[n]{p} : \sqrt[n]{q} : \sqrt[n]{r}.$$

Mit anderen Worten, es werden diese Konstanten im Verhältnis der n-ten Wurzel aus den Sauerstoffkonzentrationen der Stickstoff-Sauerstoff-Gemische stehen. Leider ist der Adsorptionsexponent für den Sauerstoff bis jetzt nicht mit genügender Sicherheit ermittelt worden, so daß es nicht möglich ist, die Verhältnisse der Mengen des auf der Bakterienoberfläche adsorbierten Sauerstoffs zu berechnen. Für den Fall, daß jener Adsorptionsexponent

$$\frac{1}{n} = \frac{1}{2}$$

ist, würden die Desinfektionsgeschwindigkeitskonstanten im Verhältnis der Quadratwurzeln aus den Sauerstoffkonzentrationen stehen.

5. Einfluß der Temperatur.

Die Kenntnis des Einflusses der Temperatur auf die Geschwindigkeitskonstante einer Reaktion ist deshalb von großem Interesse, weil sie die Möglichkeit gewährt, über die Natur des betreffenden Vorgangs näheren Aufschluß zu erteilen. Wenn

für die Aufklärung des Vorganges verschiedene Möglichkeiten in Frage kommen, ist man mit Hilfe des Temperaturkoeffizienten oft in der Lage, zwischen den in Betracht kommenden Möglichkeiten eine Wahl zu treffen. Im vorliegenden Falle kann uns der Temperaturkoeffizient der Desinfektionsgeschwindigkeit Anhaltspunkte in bezug auf den Einfluß folgender Faktoren beim Zustandekommen der Desinfektionswirkung sauerstoffhaltiger Gasgemische geben:

1. Die Diffusion als kinetischer Faktor.
2. Das Sauerstoffgleichgewicht $O_2 \rightleftarrows 2O$.
3. Die Adsorption.

Um eine Beziehung zwischen der Temperatur und der Desinfektionsgeschwindigkeitskonstante zu erhalten, wurden unsere Versuche (vgl. die Tabellen I bis XI) auch bei verschiedenen Temperaturen, aber unter sonst gleichbleibenden Bedingungen ausgeführt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle XIX übersichtlich zusammengestellt.

Tabelle XIX.

Einfluß der Temperatur auf die Desinfektionskonstante.

Granate	Gasgemisch	Versuchstemperatur in Grad	Desinfektionskonstante 60 K
1.	2.	3.	4.
VIII	Luft	+ 18,0	0,0017
VIII	"	+ 37,4	0,0157
VIII	technischer Sauerstoff	+ 18,0	0,0034
VIII	" "	+ 37,4	0,0256
XII	Luft	+ 24,9	0,0107
XII	"	+ 37,4	0,0264
XII	technischer Sauerstoff	+ 24,9	0,0200
XII	" "	+ 37,4	0,0444

6. Berechnung des Temperaturkoeffizienten.

Das Ansteigen der Desinfektionsgeschwindigkeit für einen Temperaturintervall von 10° läßt sich in folgender Weise berechnen: Betrachten wir eine Reihe von Desinfektionsgeschwindigkeitskonstanten

$$K_{0°},\quad K_{10°},\quad K_{20°},\quad K_{30°} \text{ usw.},$$

die den Temperaturen

$$0° + 10° + 20° + 30° \text{ usw.}$$

entsprechen, und bezeichnen wir den Koeffizienten für 10° mit b, so ergeben sich folgende Beziehungen:

$$K_{10°} = K_{0°} \cdot b.$$
$$K_{20°} = K_{10°} \cdot b = K_{0°} \cdot b^2.$$
$$K_{30°} = K_{20°} \cdot b = K_{0°} \cdot b^3.$$

Allgemein gelten dann für je 2 Konstanten, die sich auf die Temperaturen t_1 und t_2 beziehen, folgende Gleichungen:

$$K_{t_1} = K_0 \cdot b^{\frac{t_1}{10}},$$

$$K_{t_2} = K_0 \cdot b^{\frac{t_2}{10}} \text{ oder}$$

$$\frac{K_{t_2}}{K_{t_1}} = b^{\frac{t_2 - t_1}{10}} \quad \ldots\ldots\ldots \quad (6)$$

$$\log K_{t_2} - \log K_{t_1} = \frac{t_2 - t_1}{10} \cdot \log b; \quad \log b = 10 \frac{\log K_{t_2} - \log K_{t_1}}{t_2 - t_1} \quad (7)$$

Die so erhaltenen Werte finden sich in Tabelle XX.

Tabelle XX.
Temperaturkoeffizient der Desinfektionsgeschwindigkeit für 10°.

Granate	Gas	Temperaturintervall, das zur Berechnung benutzt wurde	Zunahme der Desinfektionsgeschwindigkeit für 10°
1.	2.	3.	4.
VIII	Luft	37,4°—18,0°	3,16
VIII	technischer Sauerstoff	37,4°—18,0°	2,83
XII	Luft	37,4°—24,9°	2,04
XII	technischer Sauerstoff	37,4°—24,9°	1,90

7. Abnahme des Temperaturkoeffizienten mit steigender Temperatur.

Bei der Betrachtung der Zahlen der letzten Reihe ergibt sich, daß die Zunahme der Desinfektionsgeschwindigkeit für 10° bei dem höheren Temperaturintervall 37,4° bis 24,9° kleiner ist als bei den niederen 37,4° bis 18,0°. Außerdem scheint diese Zunahme beim Sauerstoff geringer zu sein als bei der Luft. Während für Luft die mit Hilfe der bei 24,9° und 37,4° ermittelten Desinfektionskonstanten berechnete Zunahme der letz-

[1]) Vgl. van't Hoff, Vorlesungen über theoretische und physikalische Chemie. Braunschweig 1898, 1. Heft, S. 224.

teren für 10° sich zu 2,04 ergibt, erreicht sie beim Sauerstoff nur den Wert von 1,90. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Granate VIII für die Temperaturen 18° und 37,4°. Hier steht der Wert 3,16 demjenigen von 2,83 gegenüber.

Im allgemeinen kommen die durch die Temperaturerhöhung verursachten Beschleunigungen des Desinfektionsvorganges den mittleren Geschwindigkeitskoeffizienten chemischer und physiologisch-chemischer Reaktionen sehr nahe. Die meisten dieser Reaktionen zeigen beim Ansteigen der Temperatur um 10° eine Verdoppelung bis Verdreifachung der Geschwindigkeit. So erfährt die Menge der von den Pflanzen ausgeatmeten Kohlensäure, wie z. B. bei der Atmung von Weizen, Lupinen und Flieder, zwischen 0° und 25° eine Zunahme, die für 10° einer Geschwindigkeitszunahme um das $2^1/_2$fache entspricht. Auch die von Th. Madsen und Max Nyman[1]) sowie von H. Chick[2]) ermittelten Temperaturkoeffizienten bei der Desinfektion mit flüssigen Stoffen haben einen ähnlichen Wert. Schließlich sei noch erwähnt, daß für die Geschwindigkeit der Entwickelung des Seeigeleies nach den Versuchen von Jacques Loeb der Temperaturkoeffizient zu 2,9 ermittelt worden ist, was auch mit den von Peter aus Hertwigs Versuchen berechneten Temperaturkoeffizienten der Entwicklungsgeschwindigkeit des Froscheies in Übereinstimmung steht.[3])

8. Schlüsse aus den Temperaturkoeffizienten auf die maßgebenden Faktoren des Desinfektionsvorganges.

Der von uns berechnete Temperaturkoeffizient läßt darauf schließen, daß die oben erwähnte Annahme der Diffusion als maßgebender Faktor für die Kinetik der Desinfektionswirkung sauerstoffhaltiger Gasgemische nicht stichhaltig ist. In letzterem Falle müßte der beobachtete Temperaturkoeffizient demjenigen der Gasdiffusion annähernd gleich sein. Der Diffusionskoeffizient eines Gases ist ungefähr dem Quadrat der absoluten

[1]) Th. Madsen und Max Nyman, Zur Theorie der Desinfektion. I. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 57, 398, 1907.

[2]) Harriette Chick, An Investigation of the Laws of Desinfection. Journ. of Hygiene 8, 132, 1908.

[3]) Jacques Loeb, Über den Temperaturkoeffizienten für die Lebensdauer kaltblütiger Tiere und über die Ursache des natürlichen Todes. Arch. f. d. ges. Physiol. 124, 411, 1908.

Temperatur proportional.[1]) Für das Verhältnis der Diffusionskonstanten bei den Temperaturen T und $T+1$ ergibt sich folgende Beziehung:

$$\frac{K_{\text{Diff. } T+1}}{K_{\text{Diff. } T}} = \frac{(T+1)^2}{T^2} = \frac{T^2+2T+1}{T^2} = 1+\frac{2}{T}+\frac{1}{T^2}.$$

Für das Verhältnis der Diffusionskonstanten bei $+18^0$ und $+19^0$ gestaltet sich die Rechnung folgendermaßen:

$$\frac{K_{\text{Diff. } 273+19}}{K_{\text{Diff. } 273+18}} = 1+\frac{2}{291}+\frac{1}{291^2} = 1+0{,}007.$$

Bei 18^0 nimmt demnach die Diffusionskonstante um etwa $0{,}7\,\%$ für 1^0 zu. Außerdem ergibt sich unter Vernachlässigung des Summanden mit T^2 im Nenner, daß bei den Temperaturunterschieden von 1^0, 2^0, 3^0 usw. die entsprechenden Verhältniszahlen der Diffusionskoeffizienten

$$1+\frac{2}{T},\quad 1+\frac{4}{T},\quad 1+\frac{6}{T} \quad \ldots \quad (8)$$

betragen, d. h. eine arithmetische Reihe bilden. Mit anderen Worten, innerhalb mäßiger Temperaturgrenzen ist die Änderung der Diffusion für eine Steigerung der Temperatur um 1^0 ihrem absoluten Wert nach annähernd gleich groß.

Bei der Abtötung der Bakterien durch Sauerstoff dagegen haben wir einerseits einen Temperaturkoeffizienten, der an und für sich viel größer ist als $0{,}7\,\%$ für 1^0. Da sich die Abtötungsgeschwindigkeit bei einer Zunahme der Temperatur um 10^0 verdreifacht bis verdoppelt, so beträgt sie für 1^0 etwa $10\,\%$ bis $7\,\%$. Andererseits bilden, wie wir gesehen haben, die Verhältniszahlen der Diffusionskoeffizienten bei steigender Temperatur eine arithmetische Reihe, während sie beim Desinfektionsvorgange eine geometrische Reihe darstellen. Deshalb ist auch die Zunahme der Desinfektionsgeschwindigkeit ihrem absoluten Wert nach bei verschiedenen Temperaturen für 1^0 Temperaturerhöhung verschieden.[2])

[1]) Handbuch der Physik von A. Winkelmann, 2. Aufl., 1. Band, 2. Hälfte, S. 1420.

[2]) Wir haben für unsere Überlegung den Temperaturkoeffizienten der freien Gasdiffusion, der seinen Grund in der Änderung der Gasdichte mit der Temperatur hat, benutzt. Der Temperatureinfluß auf die Gasdiffusion durch eine Zellmembran wird sich komplizierter gestalten. Für die Diffusion durch Öffnungen in einer dünnen Wand gilt dasselbe wie für die freie Gasdiffusion. Dagegen kann sich für die Diffusion durch feste,

Indessen darf nicht verkannt werden, daß in unserem Falle der Temperatureinfluß komplizierter zur Geltung kommt als bei den chemischen Reaktionen. Bei der Ermittelung des Temperaturkoeffizienten eines Desinfektionsvorganges muß folgender Umstand berücksichtigt werden. Unsere physikalisch-chemischen Betrachtungen über die Desinfektionsvorgänge beziehen sich eigentlich nur auf die chemische Reaktion, die sich gleichzeitig mit der Abtötung der Bakterien abspielt, aber mit ihr nicht identisch ist. Wir benutzen die Zahl der abgetöteten Bakterien nur als Maß für die Geschwindigkeit dieser Reaktion und dürfen die so ermittelten Desinfektionskonstanten bei verschiedenen Temperaturen nur dann vergleichen, wenn dieses Maß bei verschiedenen Temperaturen dasselbe bleibt, oder, mit anderen Worten, wenn die Widerstandsfähigkeit der Bakterien, die wir oben in unserer Gleichung durch K' zum Ausdruck brachten, bei verschiedenen Temperaturen denselben Wert hat. Dies kann aber mit Sicherheit kaum behauptet werden. Wir haben eine ähnliche Ansicht schon zur Erklärung der Abweichungen der K-Werte am Ende des Desinfektionsvorganges herangezogen. Die chemische Reaktion, die der Abtötung der Bakterien parallel sich abspielt, scheint sowohl zu Anfang wie zu Ende monomolekular zu verlaufen. Die Abweichungen, die in den späteren Zeiten zutage treten, sind nur auf das Maß, das wir zur Messung der Geschwindigkeit benutzen, zurückzuführen. Wir haben das oben auch schon hervorgehoben.

Unter der Voraussetzung, daß die Widerstandsfähigkeit der Bakterien in den untersuchten Temperaturgebieten konstant bleibt, mit anderen Worten, daß K' von der Temperatur unabhängig ist, ist die beobachtete Abnahme des Temperaturkoeffizienten mit steigender Temperatur nur auf die chemische Reaktion der Desinfektion zurückzuführen. Es ist zwar bekannt, daß bei der großen Mehrzahl der bis jetzt beobachteten chemischen Reaktionen das Geschwindigkeitsverhältnis für 10^0

---

poröse, nicht absorbierende Körper (Gipspfropfen) infolge der Änderung der Porengröße mit der Temperatur auch der Temperaturkoeffizient der Diffusion komplizierter gestalten. Allerdings ist auch bei der Diffusion durch eine Kautschukmembran, bei welcher der Einfluß der Temperatur sehr groß ist, die Geschwindigkeitszunahme der Temperatur proportional gefunden worden. Vgl. das oben genannte Handbuch der Physik von A. Winkelmann. 1. Band, 2. Hälfte, S. 1429 ff.

mit steigender Temperatur abnimmt. Diese Abnahme ist aber bei den für uns in Betracht kommenden Temperaturunterschieden von höchstens 20° viel zu klein, als daß dadurch die beobachtete Abweichung von etwa 50% erklärt werden könnte.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß für diese Abnahme die Adsorption, die auch eine Abweichung vom Henryschen Gesetz hervorruft, in Frage kommt. Oben wurde gezeigt, daß für diese Abweichung zwei Möglichkeiten in Betracht kommen; ein Dissoziationsgleichgewicht des Sauerstoffs oder ein Adsorptionsgleichgewicht. Für den Fall, daß das Dissoziationsgleichgewicht des Sauerstoffs bei seiner Einwirkung auf die Bakterien eine maßgebende Rolle spielt, ist eine Verminderung des Temperaturkoeffizienten der Desinfektionswirkung zu erwarten, wenn mit steigender Temperatur das Gleichgewicht $O_2 \rightleftarrows 2\,O$ sich zugunsten des molekularen Sauerstoffs verschiebt. Dies wird eintreten, wenn die Dissoziationswärme positiv ist, d. h. wenn beim Zerfall der Sauerstoffmolekeln in Atome Wärme frei wird. Da aber allgemein die Dissoziation der Gasmolekeln endotherm ist, so können wir die beobachtete Abnahme des Temperaturkoeffizienten nicht in dieser Weise erklären.

Eine solche Erklärung ist aber möglich, wenn wir annehmen, daß die Adsorptionsvorgänge bei der Einwirkung des Sauerstoffs auf die Bakterien wesentlich in Frage kommen. Wie aus den Versuchen von Travers[1]) über die Adsorption der Kohlensäure durch Kohle bei verschiedenen Temperaturen hervorgeht, sinkt der Adsorptionskoeffizient mit steigender Temperatur, während der Adsorptionsexponent $\frac{1}{n}$ zunimmt. Da aber die Abnahme sich stärker geltend macht als die Zunahme, so wird die von der Gewichtseinheit des Adsorbens bei gleichem Druck aufgenommene Gasmenge bei niederer Temperatur größer sein als bei höherer. So wurden z. B. bei einem Druck von 10 cm Quecksilber von der Gewichtseinheit der Kohle bei 0° 9,43 ccm Kohlensäure aufgenommen, während die Aufnahme bei 35° nur 5,33 ccm betrug. In unserem Falle wird dieser Temperatureinfluß auf die Adsorption insofern zum Ausdruck kommen, als bei den höheren Temperaturen die an der Ober-

[1]) Vgl. Herbert Freundlich, Kapillarchemie. Leipzig 1909, S. 101 ff.

fläche resultierende Konzentration des Sauerstoffes kleiner sein wird als beim selben Gasgemische bei niederer Temperatur. Da wir nicht im Besitze der entsprechenden experimentellen Unterlagen für die Berechnung der Adsorptionsverhältnisse des Sauerstoffs und Stickstoffs sind, so kann dieser Einfluß jetzt nicht berechnet werden.

V. Schlußsätze.

1. Die Geschwindigkeit des Absterbens (Desinfektionsgeschwindigkeit) trockener Bakterien (Staphylokokken) in Sauerstoff-Stickstoff-Gemischen erfolgt nach der Gleichung einer monomolekularen Reaktion. Mit Hilfe dieser Gleichung lassen sich Desinfektionsgeschwindigkeitskonstanten berechnen.

2. Die Desinfektionsgeschwindigkeitskonstanten sind der Quadratwurzel der Sauerstoffkonzentration annähernd proportional.

3. Die Geschwindigkeit des Absterbens (Desinfektionsgeschwindigkeit) trockener Bakterien (Staphylokokken) folgt derselben Gesetzmäßigkeit wie die langsame Oxydation des Phosphors.

4. Der Temperaturkoeffizient der Desinfektionsgeschwindigkeit für eine Temperatursteigerung von 10° liegt zwischen 2 und 3.

5. Der Temperaturkoeffizient der Desinfektionsgeschwindigkeit ist nicht konstant, sondern nimmt im untersuchten Temperaturgebiete von + 18° bis + 37° mit steigender Temperatur ab.

6. Die bei dem Desinfektionsvorgange beobachtete Abweichung vom Henryschen Gesetz läßt sich auf das Dissoziationsgleichgewicht des Sauerstoffs $O_2 \rightleftarrows 2O$ zurückführen. Zur Deutung dieser Abweichung läßt sich auch die Adsorptionsisotherme heranziehen.

7. Die Abnahme des Temperaturkoeffizienten der Desinfektionsgeschwindigkeit spricht zugunsten der Mitwirkung von Adsorptionsvorgängen.

8. Die sogenannte „Granatenmethode", wie sie von B. Krönig und Th. Paul zunächst für flüssige Desinfektionsmittel ausgearbeitet wurde, hat sich für das Studium der Einwirkung von Gasen auf die Bakterien sehr brauchbar erwiesen.

Die innere Reibung von Albuminlösungen.

Von

L. Michaelis und B. Mostynski.

(Aus dem biologischen Laboratorium des städt. Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 31. März 1910.)

Mit 2 Figuren im Text.

Nachdem es schon lange bekannt war, daß viele physikalische Eigenschaften der Eiweißlösung von ihrer Acidität beeinflußt werden, gelang es uns,[1]) einen ganz bestimmten Aciditätsgrad zu definieren, der für Serumalbumin geradezu einen Wendepunkt darstellt. Wir zeigten, daß Serumalbumin bei einer $H^{\cdot}$-Konzentration von $> 0{,}8 \cdot 10^{-5}$ elektropositiv, von $< 0{,}8 \cdot 10^{-5}$ elektronegativ und bei $0{,}8 \cdot 10^{-5}$ isoelektrisch ist.[2]) Es lag nun der Gedanke nahe, auch für andere physikalische Eigenschaften des Albumins in ähnlicher Weise den Wendepunkt zu bestimmen, wenn ein solcher vorhanden ist. Für die Koagulation des Albumins haben wir das schon durchgeführt.[3])

Da die innere Reibung des Albumins nach den vorliegenden Untersuchungen mit der Acidität stark variiert, so setzten wir die Untersuchungen in diesem Sinne fort. Über die innere Reibung von Serumalbumin bei wechselnder Acidität liegen nun schon Versuche von W. Pauli und Handovsky[4]) vor. Sie fanden, daß gut dialysiertes Serumalbumin

[1]) L. Michaelis, diese Zeitschr. 19, 181, 1909.

[2]) Vorläufig sei erwähnt, daß der absolute Wert dieser Konstanten noch einer kleinen Korrektur bedarf, worüber die Untersuchungen noch im Gange sind.

[3]) L. Michaelis und B. Mostynski, diese Zeitschr. 24, 79, 1910.

[4]) W. Pauli und H. Handovsky, diese Zeitschr. 18, 340, 1909.

ein Maximum der Reibung bei einer ganz bestimmten Acidität (0,016 n-HCl) hat. Ihre Deutung geht dahin, daß sie bei dieser Acidität ein Maximum an Eiweißionen annehmen, die sie in Analogie mit Laqueur und Sackur[1]) als Träger der hohen Reibung ansprechen. Die Anschauung, daß die Menge der Eiweißionen, (bei konstanter Gesamteiweißmenge) als Funktion der Acidität der Lösung dargestellt, irgendwo ein Maximum hat, widerspricht nun vollkommen den von uns entwickelten Anschauungen, nach denen die Menge der Eiweißionen, als Funktion der Acidität dargestellt, nur ein Minimum besitzt. Pauli und Handovsky erklären die Abnahme der Eiweißionen durch überschüssige Salzsäure durch eine Zurückdrängung der elektrolytischen Dissoziation des Albuminchlorids infolge der überschüssigen HCl. Diese Auffassung kann aber Bedenken erregen. Alle Chloride, auch die ganz schwacher Basen, sind sehr stark elektrolytisch dissoziiert, und ein stark dissoziierter Elektrolyt wird durch einen im Überschuß vorhandenen, gleichionigen Elektrolyten nur relativ wenig in seiner Dissoziation herabgedrückt. Angenommen, wir haben eine 0,001 n-NaCl-Lösung, so ist diese zu etwa 98% dissoziiert. Fügen wir hierzu HCl bis zur Konzentration von 0,1 n, so wird die Dissoziation des NaCl nur so weit herabgedrückt, als ob es sich in 0,1 n-Lösung befände, also statt zu 98% wird es jetzt immer noch etwa zu 85% dissoziiert sein. Wiederholen wir diese Überlegung mit NH_4Cl statt NaCl, so ändert sich an der Betrachtung wenig, denn NH_4Cl ist fast ebenso stark dissoziiert wie NaCl. Man darf da nicht an die großen Unterschiede in der Dissoziation der verschiedenen freien Säuren und Basen denken; alle Chloride, und alle Na-Salze sind in fast gleicher Weise stark dissoziiert, und die Zurückdrängung ihrer Dissoziation durch gleichionige Elektrolyte kann immer nur unbedeutend sein. So glauben wir auch nicht, daß Eiweißchlorid durch überschüssige HCl seinen Dissoziationsgrad irgendwie erheblich (d. h. z. B. mehr als um 20% des Gesamtwertes) ändern kann.

Andererseits beobachten Pauli und Handovsky nichts von einem Minimum der inneren Reibung beim Säureeiweiß. Da aber, wofern wir ihre Ausführungen über die amphotere Natur

[1]) Laqueur und Sackur, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 3, 193, 1903.

des Eiweißes richtig verstanden haben, auch ihrer Auffassung die Annahme eines fast ionenfreien Zustandes des Eiweiß bei einer bestimmten, sehr niederen Acidität recht nahe legt, so vermißten wir in ihren Experimenten die Aufsuchung dieses Minimums.

Deshalb entschlossen wir uns, selbst Versuche über die Reibung des Albumins bei wechselnder Acidität vorzunehmen und diesen einen, aber wichtigen Punkt, den die sonst reichhaltige Arbeit von Pauli und Handovsky offen gelassen hatte, zu ergänzen.

Als das wichtigste erwies sich nun, ein von fällbaren Globulinen befreites Albumin zu erhalten, da das Globulin sich völlig anders als das Albumin verhält, worauf wir noch später eingehen werden. Das nächstliegende wäre es wieder gewesen, wie in unseren früheren Versuchen, die Globuline durch Halbsättigung mit Ammonsulfat zu entfernen. Aber durch die Dialyse der salzreichen Lösung entsteht eine so verdünnte Eiweißlösung, daß die Ausschläge für den Reibungskoeffizienten zu gering werden. Wir wählten deshalb die schon von Pauli angewandte Methode, das Globulin durch einfache Dialyse des Serums zu entfernen. Die Veränderungen während der Dialyse wurden in der Weise verfolgt, daß während der Dialyse in gewissen Abständen Proben für die Reibungsversuche entnommen wurden, und zwar so oft, bis die Resultate durch weitere Dialyse nicht mehr verändert wurden. Die verschiedenen Aciditäts- bzw. Alkalitätsgrade wurden immer nur durch HCl- bzw. NaOH-Zusatz hergestellt. Es mußte nämlich eine Säure oder Base gewählt werden, deren Salze stark elektrolytisch dissoziiert sind und nicht die Neigung haben, undissoziierte Verbindungen in erheblicherer Menge zu bilden, wie dies z. B. von den Basen des $Ca(OH)_2$ nachweislich in hohem Maße geschieht.

Daher verbietet sich Essigsäure, Ammoniak oder dgl. von selbst; ferner mußten solche Säuren vermieden werden, die das Eiweiß chemisch verändern, daher verbietet sich z. B. HNO_3. In der Tat erhielten auch Pauli und Handovsky nur mit HCl verwertbare Resultate. Bei Gegenwart von Essigsäure würde sich vielleicht als störende, neue Molekülgattung Eiweißacetat in undissoziierter Form bilden, bei Gegenwart von z. B. $Ca(OH)_2$ das

weitgehend undissoziierte Calciumalbuminat. Vom Cl' und vom Na' ist nicht anzunehmen, daß eine irgendwie nennenswerte Menge einer indissoziierten Eiweißverbindung entsteht. Wir wissen wohl, daß wir uns damit in einem gewissen Gegensatz zu Pauli befinden, und werden auf diesen Punkt bei anderer Gelegenheit ausführlich eingehen. Aber dagegen wird sich wohl kein Widerspruch erheben, daß die undissoziierten Anteile der Säure- und Laugen-Eiweißverbindungen bei Anwendung gerade von HCl und NaOH die geringst erreichbaren von allen sind.

Auf eine Bestimmung der Reibungskoeffizienten kam es nicht an, da es sich nur um die Feststellung der Maximum- und Minimumbedingungen handelte. Wir verfuhren deshalb in primitivster Weise in der Art, daß wir aus einer mit zwei Einschnürungen versehenen, in eine Capillare ausgezogenen Glasröhre die Eiweißlösungen ausfließen ließen und die Zeit notierten, die das Ausfließen von einer Marke in der ersten Einschnürung bis zu einer zweiten Marke in der anderen Einschnürung verbrauchte. Es wurde bei Zimmertemperatur gearbeitet. Alle Bestimmungen wurden mindestens doppelt ausgeführt, die Übereinstimmung war befriedigend, indem die Differenzen trotz der rohen Methode meist nicht über 1% des Gesamtwertes betrugen. Es wurde mit sehr verschiedenen Capillaren gearbeitet, innerhalb einer Reihe aber natürlich stets mit der gleichen Capillare.

Tabelle I.

7 Tage dialysiertes Pferdeserum.

9 ccm Serum + 1 ccm	Ausflußzeit	[H·]
0,2 n-HCl	179″	
0,15 n-HCl	175	
0,1 n-HCl	173 Minim.!	ca. $2 \cdot 10^{-5}$
0,037 n-HCl	177	
0,018 n-HCl	182	
Wasser	184	
0,01 n-NaOH	175	
0,02 n-NaOH	174,5 !¹)	
0,1 n-NaOH	186,5	

¹) ! bedeutet die Ausbildung eines zweiten Minimums im alkalischen Gebiet.

Tabelle II.

Zeit der Dialyse	9 ccm Serum versetzt mit 1 ccm	Ausflußzeit	[H·]
3 Tage	0,1 n-HCl	188,5″	
	0,075 n-HCl	181	
	0,037 n-HCl	177 Min.!	
	Wasser	178	
	0,02 n-NaOH	188	
	0,04 n-NaOH	186 !¹)	
9 Tage	0,1 n-HCl	333,5	
	0,075 n-HCl	295,5	
	0,037 n-HCl	294,5 Min.!	
	0,019 n-HCl	308,5	
	Wasser	306,5	
	0,02 n-NaOH	311,5	
	0,04 n-NaOH	309 !¹)	
16 Tage	0,1 n-HCl	508″	$9{,}8 \cdot 10^{-5}$
	0,05 n-HCl	453,5	$2{,}0 \cdot 10^{-5}$
	0,025 n-HCl	421,5 Min.!	$0{,}28 \cdot 10^{-5}$
	0,012 n-HCl	441	
	Wasser	455	$0{,}7 \cdot 10^{-7}$
	0,02 n-NaOH	456	
	0,04 n-NaOH	471 kein Minimum	
21 Tage	1 n-HCl	414,5″	
	0,1 n-HCl	399,5	
	0,04 n-HCl	339,0	
	0,02 n-HCl	325,0 Min.!	$2{,}1 \cdot 10^{-5}$
	0,01 n-HCl	327,0	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$
	Wasser	334,0	
	0,02 n-NaOH	334,5	
	0,04 n-NaOH	351,0 kein Minimum	

Tabelle III.

Zeit der Dialyse	9 ccm Serum versetzt mit 1 ccm	Ausflußzeit	[H·]
3 Tage	1 n-HCl	425″	
	0,1 n-HCl	174,5 Min.	
	0,01 n-HCl	185,5	
	Wasser	183,5 !¹)	
5 Tage	1 n-HCl	215″	
	0,1 n-HCl	106 Min.	
	Wasser	166	
	1 n-NaOH	134 !¹)	

¹) ! bedeutet die Ausbildung eines zweiten Minimums im alkalischen Gebiet.

Tabelle III (Fortsetzung).

Zeit der Dialyse	9 ccm Serum versetzt mit 1 ccm	Ausflußzeit	[H·]
6 Tage	0,2 n-HCl	193,5	
	0,1 n-HCl	277	
	Wasser	172 Min.	
	0,2 n-NaOH	167 !¹)	
	1 n-NaOH	364	
7 Tage	0,2 n-HCl	179″	
	0,15 n-HCl	175	
	0,1 n-HCl	173 Min.	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$
	0,037 n-HCl	177	
	0,018 n-HCl	182	
	Wasser	184	
	0,01 n-NaOH	175	
	0,02 n-NaOH	174,5 !¹)	
	0,1 n-NaOH	186,5	
8 Tage	0,125 n-HCl	198,5	
	0,075 n-HCl	175,5 Min.	$1{,}9 \cdot 10^{-5}$
	0,037 n-HCl	177,5	$0{,}6 \cdot 10^{-5}$
	Wasser	184	
9 Tage	0,1 n-HCl	177,5	$3{,}4 \cdot 10^{-5}$
	0,075 n-HCl	170,5 Min.	$1{,}1 \cdot 10^{-5}$
	0,035 n-HCl	173,5	$0{,}54 \cdot 10^{-5}$
	Wasser	176	
	0,02 n-NaOH	175,5	
	0,04 n-NaOH	172,5 !¹)	
	0,1 n-NaOH	188,5	

Versuch IV.

Zeit der Dialyse	9 ccm Serum + 1 ccm	Ausflußzeit	[H·]
2 Tage	1 n-HCl	262,5″	
	0,1 n-HCl	98,5 Min.	$0{,}56 \cdot 10^{-5}$
	0,02 n-HCl	106	
	Wasser	110	
	0,033n-NaOH	108 !¹)	
	0,1 n-NaOH	111	
6 Tage	0,1 n-HCl	208″	
	0,025 n-HCl	184 Min.	
	Wasser	187	
	0,02 n-NaOH	189	
	0,04 n-NaOH	197,5 } kein	
	0,1 n-NaOH	202,5 } Min.	

¹) ! bedeutet die Ausbildung eines zweiten Minimums im alkalischen Gebiet.

Betrachten wir den Einfluß der Dauer der Dialyse auf den Abfall der Reibung im alkalischen Gebiet: in Versuch IV z. B. nach 2tägiger Dialyse deutlicher Abfall im alkalischen Gebiet, nach 6tägiger Dialyse Anstieg im alkalischen Gebiet. Das Minimum bei leicht saurer Reaktion ist dagegen in beiden Fällen ausgeprägt, es ist unabhängig vom Grade der Dialyse, stets vorhanden. Den weitesten Überblick über den Einfluß der Dialysendauer gibt Tabelle II. Das Minimum der Reibung findet sich hier bei einem Gehalt von $^1/_{10}$ Volumen 0,02 n-HCl, also bei einem Gesamtgehalt von 0,002 n-HCl. Pauli und Handovsky haben zwischen 0 und 0,005 n-HCl keine Zwischenstufe mehr gemacht.

Die Resultate obiger Versuche lassen sich dahin zusammenfassen:

Von den höchsten Aciditäten absteigend, findet sich eine stetige Verminderung der Reibung. Ein Maximum existiert innerhalb des von uns untersuchten Bereichs von Aciditäten nicht, sondern nur eine stetige Vermehrung mit steigender Säuremenge. Mit abfallender Acidität gelangen wir nun stets zu einem Minimum der Reibung. Hier aber müssen wir die noch globulinhaltigen Lösungen der ersten Dialyseperiode von den globulinfreien Lösungen nach längerem Dialysieren unterscheiden.

In der ersten Zeit des Dialysierens ist das Minimum sehr unscharf, erstreckt sich über einen weiten Bereich; bei weiterer Abnahme der Acidität und im Gebiet der Alkalität steigt die Kurve bei einigen Serumproben wieder etwas, um aber sehr bald wieder abzufallen. Wir erhalten eine Kurve von der Form:

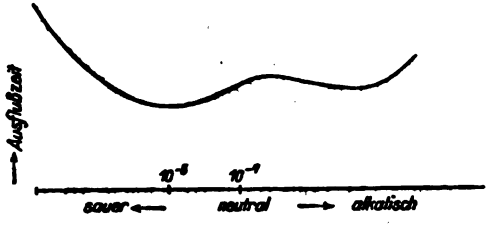


Fig. 1.

Je länger wir dialysieren, um so schärfer wird das Minimum und um so mehr verschwindet der zweite Abfall der

Kurve im alkalischen Gebiet, so daß die Kurve schließlich die Form annimmt:

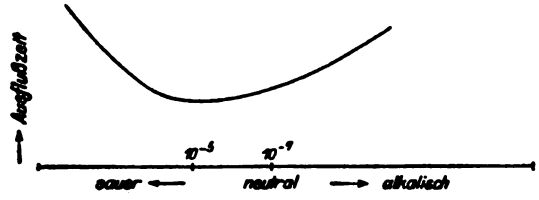


Fig. 2.

In Kurve 1 interferieren augenscheinlich die Kurve des Albumins und die des Globulins. Die Reibung des Globulins nimmt im alkalischen Gebiet ab, die des Albumins zu.

Jetzt muß noch die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration festgestellt werden, die dem Minimum entspricht. Diese wurde festgestellt, indem dieselben Flüssigkeiten, die für die Reibungsversuche benutzt worden waren, zur Herstellung einer Konzentrationskette benutzt wurden:

$$Pt,H_2 \;\Big|\; \text{Serum} \;\Big|\; \begin{matrix}\text{Gesättigte}\\ KCl\end{matrix} \;\Big|\; \begin{matrix}\text{n-KCl}\\ +0{,}01\ HCl\end{matrix} \;\Big|\; Pt,H_2$$

Aus der EMK derselben wurde in üblicher Weise die $H^{\cdot}$-Konzentration berechnet. Die $H^{\cdot}$-Konzentration der Vergleichslösung wurde $= 0{,}008$ n gesetzt, da die HCl in einem Überschuß von $^n/_1$-KCl gelöst war. Das Kontaktpotential wurde vernachlässigt, was für unsere Zwecke hier durchaus zulässig ist. Denn die erreichbare Genauigkeit ist, wie wir sogleich sehen werden, nicht groß genug, um so unbedeutende Korrekturen aufzunehmen.

Wenn wir nämlich bedenken, daß die ganz exakte Bestimmung des Reibungsminimums ziemlich schwierig ist, und wenn wir ferner bedenken, daß Lösungen mit einem Gehalt an $^n/_{500}$ bis $^n/_{1000}$-HCl, wie sie dem Reibungsminimum entprechen, überhaupt nicht mehr sehr exakt in ihrer $H^{\cdot}$-Konzentration definiert sind, so müssen wir die $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration für das Reibungsminimum, etwa $0{,}28 \cdot 10^{-5}$ bis $2 \cdot 10^{-5}$, als befriedigend übereinstimmend betrachten mit dem früher festgestellten isoelektrischen Punkt $= 0{,}8 \cdot 10^{-5}$. Da bei isoelektrischer Reaktion die Eiweißionen ein Minimum bilden, so kann man daraus in Übereinstimmung mit dem auf anderem Wege gewonnenen Resultate

von Laqueur und Sackur sowie von Pauli und Handovsky schließen, daß die Albuminionen eine höhere Reibung besitzen als das undissoziierte Albumin. Beim Globulin haben aber, wie es uns vorläufig scheint, nur die negativen Ionen eine größere Reibung als das undissoziierte Globulin, und die positiven sogar eine kleinere. Die Verhältnisse bei den Globulinen sind allerdings bisher schwierig zu überblicken. Auch ist es nicht klar, warum bei einigen Serumproben das (sich übrigens nur wenig markierende) Minimum im alkalischen Gebiet erst bei längerer Dialyse schwindet, bei anderen Serumproben sich selbst bei kürzerer Dialyse kaum bemerkbar macht.

Dagegen ist allen Serumproben gemeinschaftlich das Minimum der Reibung bei $[H^{\cdot}]$ um 10^{-5}, und das ist das Wichtigste für uns.

In globulinreichen, ungenügend dialysierten Seren kommt noch eine zweite Versuchsschwierigkeit hinzu, daß bei derselben Reaktion, die im sauren Gebiet dem Minimum der inneren Reibung entspricht, die Globuline eine Trübung oder gar eine Flockung geben, weil dieser Punkt den isoelektrischen Punkt auch für das Globulin darstellt.[1]) Daß das Ausfallen von Eiweiß einen Einfluß auf die innere Reibung haben muß, ist ohne weiteres einleuchtend. Darum sind auch alle Versuche, bei denen die Dialyse noch nicht ausreichend ist, theoretisch nicht zu verwerten, und sie haben in unseren Versuchsreihen nur den Sinn, daß wir durch die Untersuchung verschieden lange dialysierter Lösungen feststellen können, von wann an wir den Einfluß der Globuline ausschalten können und von welchem Zeitpunkt an wir das definitive Resultat für die globulinfreie Lösung haben, das durch weiter fortgesetzte Dialyse nicht mehr wesentlich geändert wird. Es sei noch betont, daß gleich zu Anfang für die Lage des Reibungsminimums im sauren Gebiet, wenn man es auf die $H^{\cdot}$-Konzentration bezieht, die Zeit der Dialyse ohne Belang ist, und daß die Dialyse nur bewirkt, daß das zweite Minimum im alkalischen Gebiet verschwindet.

---

[1]) Schon hieraus ergibt sich, wie noch in einer inzwischen fertiggestellten Arbeit eingehend nachgewiesen worden ist, daß die isoelektrische Konstante für Serumalbumin und Globulin identisch ist. Bei anderen Eiweißarten, wie Casein, Edestin, Ricinglobulin, erwies sich diese Konstante als durchaus verschieden hiervon.

Es existiert noch ein zweites, mit diesem sehr verwandtes Problem, die Beeinflussung der inneren Reibung des Albumins durch Zusatz von Neutralsalzen. Pauli und Handovsky haben ein großes experimentelles Material über diese Frage geschaffen, ihm aber eine Deutung gegeben, der wir uns teilweise nicht anschließen können. Ihre Deutung beruht nämlich auf der Meinung, daß die H·-Ionenkonzentration einer sauren Eiweißlösung durch Neutralsalzzusatz merklich zunehme, und sie schließen das aus dem Verhalten einiger Indicatoren. Sie haben aber gewisse Fehlerquellen der Indicatorenmethode nicht berücksichtigt.[1]) Da wir die Untersuchungen über die Wirkung der Neutralsalze absichtlich noch nicht in das Bereich unserer Betrachtungen gezogen haben, so wollen wir uns vorläufig mit der gar nicht zu umgehenden Annahme abfinden, daß außer der H·-Konzentration auch noch die Gesamtelektrolytkonzentration der Lösung einen Einfluß auf die innere Reibung des Eiweißes habe. Die innere Reibung einer Albuminlösung ist daher eine Funktion erstens der H·-Konzentration, zweitens der in Lösung befindlichen Elektrolyte überhaupt. Diese beiden Funktionen sind voneinander ganz unabhängig. Die erste geht durch ein Minimum, die zweite fällt, wie es scheint, stetig ohne Minimumbildung. Wir haben also bisher nur den Einfluß der H·-Konzentration untersucht und lassen die Frage nach dem Einfluß der Neutralsalze unberührt. Als wesentlich für unsere Auffassung betonen wir aber, daß wir die Neutralsalzwirkung als völlig unabhängig von der Wirkung der H·-Ionenkonzentration halten. Deshalb haben wir auch vermieden, mit extrem hohen Säure- und Laugenkonzentrationen zu arbeiten, weil hier wahrscheinlich über den Einfluß der H·-Ionenkonzentration sich der Einfluß der hohen Elektrolytkonzentration überlagert.

Resumé:

Die innere Reibung des gelösten Serumalbumins hat bei der isolektrischen Wasserstoffionenkonzentration ein Minimum.

[1]) L. Michaelis und P. Rona, Zeitschr. f. Elektrochem. 1908, Nr. 18, S. 251. — Sörensen, diese Zeitschr. 21, 208 ff., 1909. — L. Michaelis und P. Rona, diese Zeitschr. 23, 61, 1910.

Untersuchungen über den Purinstoffwechsel.

III. Mitteilung.

Über den Gesamtstickstoff und den Purinstickstoff in den Organen von Scyllium catulus.

Von

Vittorio Scaffidi.

(Aus der physiologischen und der chemischen Abteilung der zoologischen Station in Neapel.)

(Eingegangen am 2. April 1910.)

Der Gehalt an Purin-N in den verschiedenen Organen von Scyllium catulus wurde nach der Methode der doppelten Fällung von Burian[1]) bestimmt. Außerdem wurde in jedem der untersuchten Organe der Gesamt-N-Gehalt festgestellt.

Muskeln. Zur Bestimmung des Purin-N wurden 270 g Muskelbrei aus dem Rücken mehrerer Scyllien verwendet. Der Gesamt-N wurde in 3,6 g der Substanz ermittelt. Die Analyse ergab 0,1937 g Purin-N = 0,0717 %. Gesamt-N: 4,37 %.

Magen. 55 g Brei, erhalten durch Zerkleinern der Magen von 6 Scyllien, ergaben 0,02366 g Purin-N = 0,043 %. Gesamt-N: 3,32 %.

Darm. Die Därme von 6 Scyllien wurden zu Brei verarbeitet. In 40 g dieses Breies fanden sich 0,02968 g Purin-N, d. i. also 0,073 %. Der Gesamt-N betrug 3,29 %.

Pankreas. Die Pankreas von 3 Scyllien wogen 9 g. In 7,4 g davon wurde der Purin-N bestimmt, der 0,01218 g = 0,163 % betrug. Gesamt-N: 3,45 %.

Leber. Es ist bekannt, daß in der Leber von Scyllium catulus sich eine große und variable Menge von Fett anhäuft, wodurch der Gehalt der Drüse an Purin-N erheblichen Schwankungen unterliegt. Zunächst wurde einmal der Purin-N in 143 g sehr fettreichen Leberbreies (4 ganze Lebern) bestimmt: erhalten wurden 0,039 g Purin-N = 0,0272 %. Eine andere Bestimmung wurde ausgeführt mit einem Teile des Breies von

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 38, 1903.

4 weniger Fett enthaltenden Lebern. 80 g der Substanz zeigten 0,3479 g Purin-N, also 0,043%. Gesamt-N: 1,30%.

Niere. 15,5 g Nierensubstanz (5 Scyllien) wiesen 0,0182 g Purin-N auf = 0,117%. Gesamt-N: 3,15%.

Wolffscher Körper. Bestimmt wurde der Purin- sowie der Gesamt-N der oberen Teile von 4 Wolffschen Körpern. In 19,1 g Substanz fanden sich 0,01946 g Purin-N = 0,1018%. Gesamt-N: 2,95%.

Testikel. Verwendet wurden Teile der Testikel von 2 Scyllien. Untersuchte Substanz: 28,85 g. Gehalt an Purin-N: 0,0455 g = 0,157%. Gesamt-N: 2,62%. Außer dieser im Monat Juli ausgeführten Bestimmung wurde eine andere Untersuchung im Januar, also während der Periode gesteigerten Geschlechtstätigkeit, unternommen. In 139 g Substanz, die einen Teil der Testikel von 4 Scyllien darstellte, betrug der Purin-N 0,23058 g = 0,1658%.

Ovarium. Untersucht wurden die Ovarien mehrerer Scyllien, unter Anschluß des Ausführungsganges (Müllerscher Gang). 69,3 g ergaben 0,0376 g Purin-N = 0,054%. Gesamt-N: 3,03%.

Milz. Zur Analyse wurden verwendet die Milzen von 3 Scyllien. Aus 25,68 g Milzpulpe wurden gewonnen 0,0393 g Purin-N = 0,153%. Gesamt-N: 3,05%.

Nervensystem. Rückenmark und Gehirn von 6 Scyllien wurden zusammen untersucht. Es ergaben sich in 12,2 g Nervengewebe 0,00812 g Purin-N = 0,066%. Gesamt-N: 2,82%.

In der folgenden Tabelle sind zusammengestellt: die bei den verschiedenen Analysen erhaltenen Werte, die Mengen des Purin- und Gesamt-N in Prozenten für jedes der untersuchten Organe sowie das Verhältnis vom Gesamt-N zum Purin-N.

Tabelle.

Organ	Gewicht des für die Purin-N-Bestimmung angewandten Organbreies g	Gefundene Purin-N-Menge mg	Purin-N-Gehalt %	Gesamt-N-Gehalt %	Verhältnis des Gesamt-N zum Purin-N
Muskeln . . .	270	193,7	0,0717	4,37	60,94
Magen	55	23,66	0,043	3,32	77,2
Darm	40	29,68	0,073	3,29	45,06
Pankreas . . .	7,4	12,18	0,163	3,45	21,16
Leber	143	39,06	0,0272		
„	80	34,79	0,043	1,30	30,23
Niere	15,5	18,2	0,117	3,15	26,06
Testikel	28,85	45,5	0,157	2,62	16,68
„	139	230,58	0,1658		
Wolffscher Körper . .	19,1	19,46	0,1018	2,95	28,97
Ovarium . . .	69,3	37,6	0,054	3,03	56,11
Milz	25,68	39,3	0,153	3,05	19,93
Zentralnervensystem . .	12,2	8,12	0,066	2,82	42,72

Diejenigen Organe also, welche die größte Menge Purinkörper enthalten, sind: Pankreas, Testikel, Milz, mit einem Purin-N-Gehalt von 0,163 resp. 0,157 und 0,153%. Zur Zeit der gesteigerten Geschlechtstätigkeit erhöht sich der Purin-N in den Testikeln sogar auf 0,1658%. In allen diesen Organen ist folglich der Quotient $\frac{\text{Gesamt-N}}{\text{Purin-N}}$ klein. Er beträgt in den Testikeln 16,68, in der Milz 19,93, im Pankreas 21,16. Etwas größer ist dieser Quotient in der Niere und im Wolffschen Körper (26,06 resp. 28,97), in denen die Menge des Purin-N merklich geringer ist als in den oben genannten Organen. Der niedrige Purin-N-Gehalt der Leber hängt damit zusammen, daß diese Drüse den Haifischen als Fettdepot dient. Dementsprechend unterliegt der Gehalt an Purin-N starken Schwankungen, je nach der Quantität des im Organe aufgespeicherten Fettes. Auch der Gesamt-N ist naturgemäß ein sehr niedriger (1,30%). Der Quotient $\frac{\text{Gesamt-N}}{\text{Purin-N}}$ ist klein (30,23), wie auch sonst in purinreichen Organen.

Das Ovarium, die quergestreiften Muskeln und das Nervengewebe enthalten geringere Quantitäten von Purinkörpern, und zwar 0,054, 0,0717 und 0,066%. Der Quotient $\frac{\text{Gesamt-N}}{\text{Purin-N}}$ beträgt für das Ovarium 56,11, für das Nervengewebe 42,72. Die von mir an den Muskeln von Scyllium erhaltenen Werte lassen sich nicht ohne weiteres vergleichen mit denen von Walker Hall[1]), der den Gehalt an Purin-N zu rein praktischen Zwecken bestimmte. Er verwandte die Versuchstiere so, wie sie auf dem Markte verkauft werden, d. h. ohne sie von Knochen, Haut usw. zu befreien. Die Menge von Purin-N, die Walker Hall bei 4 Fischsorten (Kabeljau, Scholle, Heiligenbutt und Lachs) fand, betrug im Mittel 0,0233, resp. 0,0318, 0,0408 und 0,0466%; sie war also erheblich geringer als jene des Muskelgewebes von Scyllium catulus. Eine Gegenüberstellung meiner Resultate und jener von Burian und Walker Hall[2]) ergibt, daß sich in den Muskeln bei Scyllium die gleiche Menge Purin-N findet wie beim Kalb, und daß sie etwas größer ist

[1]) Walker Hall, The purinbodies of foodstuffs. London 1903.
[2]) Burian und Walker Hall, Zeitschr. f. physiol. Chem. 38, 1903.

als die in den Muskeln vom Pferd (0,055%) und vom Ochsen (0,063%) enthaltene.

Ebenso geht aus dem Vergleich meiner Resultate mit den Angaben von Burian und Hall hervor, daß der Purinbasen-N-Gehalt des Pankreas bei Scyllium (0,1639%) etwas höher ist als beim Schwein (0,123%), aber niedriger als beim Rind (0,183%).

Der Magen von Scyllium ist erheblich purinärmer (0,043% Purinbasen-N) als der Darm (0,073%); das erklärt sich offenbar aus der großen Zahl von Schleimhautklappen, mit denen der Darm ausgekleidet ist, derart, daß letzterer verhältnismäßig viel mehr epitheliales Gewebe enthält als der Magen.

Untersuchungen über den Purinstoffwechsel.

IV. Mitteilung.

Über das Verhalten der Purinkörper bei der Autolyse der Leber von Scyllium catulus.

Von

Vittorio Scaffidi.

(Aus der physiologischen und der chemischen Abteilung der zoologischen Station in Neapel.)

(Eingegangen am 2. April 1910.)

Aus den von mir unternommenen Versuchen über das Harnsäurezerstörungsvermögen von Scyllium catulus[1]) ergab sich, daß die Leber dieser Tiere imstande ist, größere Mengen von Harnsäure zu zerstören als, soweit bisher bekannt, irgend ein Organ eines anderen Tieres.

Gelegentlich dieser Untersuchungen teilte ich auch die Resultate eines Autolyseversuches mit, den ich ausgeführt hatte, um zu ermitteln, ob bei 4stündiger Digestion der Leber — der längsten Digestionsdauer in meinen Uricolyseexperimenten — sich eine Bildung von Harnsäure aus den Purinbasen der Leber vollziehe, wie dies bei verschiedenen höheren Wirbeltieren von der Leber und anderen Organen bekannt ist. Das Ergebnis war ein negatives.

Die folgenden Versuche wurden unternommen, um festzustellen, ob nicht vielleicht bei einer länger fortgesetzten Autodigestion der Leber — die Versuchsdauer variierte zwischen 4 und 96 Stunden — Harnsäure auftritt; vor allem aber, um zu ermitteln, wie sich dabei die Purinbasen verhalten.

---

[1]) V. Scaffidi, diese Zeitschr. 18, 1909.

Die Leber der Haifische wurde fein zerrieben und darauf jeder Portion des zu autolysierenden Breies eine bestimmte Quantität von Chloroformwasser zugefügt. Dann kamen die Gemische für eine kürzere oder längere Zeit in den Thermostaten bei 39 bis 40° C und bei Sauerstoffdurchströmung.

Zu dem Zeitpunkte, in dem man die Autodigestion unterbrechen wollte, wurde der Leberbrei in ca. 1500 ccm kochenden Wassers gegossen und mit Essigsäure angesäuert. Nach der Koagulation wurden die Proteinsubstanzen heiß abfiltriert, die Harnsäure im Filtrat nach den von mir in den vorhergehenden Untersuchungen angegebenen Methoden bestimmt und ferner der Purinbasen-N-Gehalt sowohl des Filtrates wie des Coagulums nach der Methode der doppelten Fällung von Burian ermittelt.

Versuch 1.

Die Leber von 3 Haifischen wird in 3 Teile geteilt, deren einer, a, zur Kontrolle dient und ohne Autolyse koaguliert wird. Die beiden Portionen b und c kommen nach Zusatz von je 150 ccm Chloroformwasser in den Thermostaten, wo sie unter Luftdurchleitung 4, resp. 6 Stunden lang bei einer Temperatur von 38° C verbleiben.

Resultat:

a) 143 g Leber, nicht autolysiert.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . ∅.
Purinbasen-N . . . . . 0,0053 g.
Im Coagulum: Purinbasen-N . . . . 0,03376 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,03906 g = 0,027%.

b) 103 g Leber nach 4stündiger Autolyse.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . ∅.
Purinbasen-N . . . . . 0,01066 g.
Im Coagulum: Purinbasen-N . . . . 0,01552 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,2618 g = 0,0254%.

c) 127 g Leber nach 6stündiger Autolyse.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . ∅.
Purinbasen-N . . . . . 0,0124 g.
Im Coagulum: Purinbasen . . . . . 0,0193 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,0317 g = 0,0249%.

Es ergibt sich aus diesem Versuch:

1. daß während bei einer bis zu 6 Stunden, also relativ kurzen Zeit, ausgedehnten Autolyse der Gesamt-Purin-N sich nur um eine ganz geringe, kaum merkliche Spur vermindert: in a, der nicht autolysierten Portion, waren 0,027% vorhanden, während sich in den Proben b und c nach 4, resp. 6stündiger Autolyse nach 0,0254% bzw. 0,0249% fanden;

2. daß das Filtrat keine Spur von Harnsäure aufweist;

3. daß die Purinbasen schon nach 4 bis 6stündiger Digestion zum großen Teile im freien Zustande zugegen sind und daher im Filtrate auftreten. Der Purinbasen-N-Gehalt des Filtrates betrug in Portion a 0,0037%, in Portion b und c dagegen 0,0103%.

Versuch 2.

Die zu Brei zerkleinerte Leber von 3 Scyllien wird in 4 Teile geteilt zu je 80 g. Portion a wird sofort, ohne sie der Autolyse zu unterziehen, koaguliert. Die anderen 3 Portionen, b, c, d, kommen für 12, resp. 24 und 48 Stunden in den auf 39° C eingestellten Thermostaten. Jedem dieser Teile waren 150 ccm Chloroformwasser zugefügt worden, und von Zeit zu Zeit wurde neuerlich Chloroform nachgegeben, um das verdampfte zu ersetzen. Während der ganzen Dauer dieses Experiments wurde Sauerstoff durchgeleitet.

Resultat:

b) Nicht autolysierter Leberbrei.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . ∅.
Purinbasen-N . . . . . 0,004 g.
Im Coagulum: Purinbasen-N . . . . 0,0242 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,0282 g = 0,035%.

b) Nach 12stündiger Autolyse.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . ∅.
Purinbasen-N . . . . . 0,0155 g.
Im Coagulum: Purinbasen-N . . . . 0,0081 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,0236 g = 0,029%.

c) Nach 24stündiger Autolyse.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . ∅.
Purinbasen-N . . . . . 0,0149 g.
Im Coagulum: Purinbasen-N . . . . . 0,0058 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,0207 g = 0,026%.

d) Nach 48stündiger Autolyse.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . ∅.
Purinbasen-N . . . . . 0,0102 g.
Im Coagulum: Purinbasen-N . . . . . 0,0029 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,0131 g = 0,016%.

Also auch bei einer bis zu 48 Stunden ausgedehnten Digestion der Leber begegnet man keiner Spur von Harnsäure, obgleich reichlich freie Purinbasen vorhanden sind wie im vorhergehenden Experiment. Tatsächlich beträgt der Purinbasen-N im Filtrat nach 12stündiger Digestion 0,0155 g, während er in dem nicht der Autolyse unterworfenen Leberbrei a nur 0,004 g ausmacht. Auch in den Proben c und d findet sich eine erhebliche Menge von Purinbasen-N im Filtrat, doch ist sie nicht größer als die nach 12stündiger Digestion. Diese Tatsache und die damit verbundene fortschreitende Verminderung auch der gebundenen Purinbasen im Coagulum von c und d beweist, daß ein Teil der Purinkörper einer weiteren Veränderung unterliegen muß, durch die sie den Charakter von Purinstoffen verlieren. Am deutlichsten ergibt dies ein Vergleich des Gesamt-Purinbasengehaltes in den Versuchsportionen. Der Gesamt-Purin-N in der nicht autolysierten Portion a beträgt 0,035%, der der Portionen b und c 0,029, resp. 0,026%, derjenige von d, also nach 48stündiger Autolyse, nur mehr 0,016%. Zu dieser Zeit waren also mehr als 50% der

Purinkörper der Leber in Substanzen umgewandelt, die durch ammoniakalische Silberlösung nicht fällbar sind.

Versuch 3.

Die zu Brei zerkleinerten Lebern von 4 Scyllien werden gemischt und in 5 Teile zu je 80 g geteilt, wovon der eine, a, ohne vorausgehende Autolyse gekocht wird; die anderen 4 Portionen, b, c, d, e, werden nach Zusatz von Chloroform, wie im vorigen Experiment, und unter Sauerstoffdurchleitung 24, resp. 30, 72 und 96 Stunden autolysiert.

Resultat:

a) Nicht autolysierter Leberbrei.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . Ø.
Purinbasen-N . . . . . 0,0019 g.
Im Coagulum: Purinbasen-N . . . . . 0,0328 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,0347 g = 0,0436 %.

b) Nach 24stündiger Autolyse.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . Ø.
Purinbasen-N . . . . . 0,0194 g.
Im Coagulum: Purinbasen-N . . . . . 0,0047 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,0241 g = 0,030 %.

c) Nach 30stündiger Autolyse.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . Ø.
Purinbasen-N . . . . . 0,0203 g.
Im Coagulum: Purinbasen-N . . . . . 0,0033 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0.0236 g = 0,0295 %.

d) Nach 72stündiger Autolyse.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . Ø.
Purinbasen-N . . . . . 0,0148 g.
Im Rückstand: Purinbasen-N . . . . 0,0042 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,0190 g = 0,0235 %.

e) Nach 96stündiger Autolyse.
Im Filtrat: Harnsäure . . . . . Ø.
Purinbasen-N . . . . . 0,0144 g.
Im Coagulum: Purinbasen-N . . . . . 0,0036 g.
Gesamt-Purinbasen-N . 0,0180 g = 0,0225 %.

In diesem Versuch wurden in den ersten 24 Stunden ca. 30 % der in der Leber enthaltenen Purinkörper zerstört. Es fand sich in der nicht autolysierten Probe a ein Gesamt-Purin-N von 0,0436 %, in b nach 24stündiger Autolyse nur ein solcher von 0,0301 %, was eine Verminderung um ca. 30 % der Ausgangsmenge bedeutet.

Der Purin-N vermindert sich in c und d auf 0,0295 resp. 0,0235 % und in e, also nach einer Digestion von 96 Stunden, auf 0,0225 %.

Schon nach 24stündiger Digestion wird ein großer Teil der Purinkörper in freiem Zustande angegriffen, der im Filtrat vorhandene Basen-N beträgt 0,194 g, gegenüber 0,0019 g im Filtrate der nicht autolysierten Probe a.

In den übrigen Portionen, d und e, nimmt die Menge der freien Purinkörper auf 0,014 g N ab infolge der teilweisen weiteren Umwandlung dieser Stoffe.

Hervorgehoben sei, daß auch bei diesem wie bei den vorhergehenden Experimenten keine Spur von Harnsäure gefunden wurde.

Die Menge der gebundenen Purinkörper des Coagulums verringerte sich in b (24stündige Autolyse) auf 0,0047 g gegen 0,0328 g in a, das heißt also im Coagulum der nicht der Autolyse unterzogenen Leber; in den Portionen c, d, e, die für 30, resp. 72 und 96 Stunden im Thermostaten gehalten waren, begegnen wir ungefähr denselben Mengen wie in b.

Aus den vorstehenden Ergebnissen lassen sich folgende Schlüsse ziehen:

1. In der Leber von Scyllium catulus scheint eine Nuclease vorhanden zu sein, die ihre Wirksamkeit hauptsächlich in der Zeit zwischen der 6. und der 24. Stunde der Autolyse entfaltet.

2. Die durch die Nuclease aus den Nucleoproteiden der Leber abgespaltenen Purinbasen erleiden weiterhin teilweise Veränderungen, durch die sie den Charakter von Purinstoffen vollkommen verlieren; auch diese Veränderungen spielen sich vorwiegend zwischen der 6. und der 24. Stunde der Autolyse ab.

3. Harnsäure tritt selbst bei lange (bis zu 96 Stunden) fortgesetzter Digestion der Leber nicht auf. Dies wäre auch dann ganz begreiflich, wenn aus den während der Digestion abgespaltenen Purinbasen zunächst Harnsäure entstehen sollte; denn nach den in meiner ersten Mitteilung niedergelegten Erfahrungen müßte diese Harnsäure doch sogleich wieder weiter zerstört werden.

Über die Adsorption durch Talke.

Von

P. Rohland.

(Aus dem Institut für Elektrochemie und technische Chemie der Techn. Hochschule zu Stuttgart.)

(Eingegangen am 4. April 1910.)

Die Adsorptionsphänomene, die ich bei den Tonen beobachtet habe,[1]) treten, wenn auch in etwas beschränkterem Maße, bei den Talken auf.

Da die Talke eine wesentlich einfachere Konstitution haben als die Tone, so lassen sich vielleicht die Ursachen der Adsorption noch etwas näher angeben, als es bisher geschehen ist.

Die Talke (Steatit, Speckstein) werden jetzt, im Gegensatz zum Serpentin und Sepiolith (Meerschaum) als wasserfreie Magnesiumsilicate bezeichnet und als saure Salze der Metakieselsäure, entsprechend der Formel

$$Mg_2H_2(SiO_3)_4$$

aufgefaßt. In einigen älteren Hand- und Lehrbüchern werden sie noch als wasserhaltige Magnesiumsilicate aufgeführt; diese Angaben rühren wahrscheinlich von den Untersuchungen Th. Scheerers[2]) her.

Rammelsberg[3]) schreibt dem Serpentin die Formel zu

$$H_2Mg_3Si_2O_8 + H_2O,$$

da ein Teil des Wassers bei mäßigem Erhitzen entweicht, während der andere erst bei anhaltendem Glühen frei wird.

In der Reihe der Magnesiumsilicate

Sepiolith,
Serpentin,
Talk

---

[1]) Diese Zeitschr. 17, 220, 1909; 17, 278, 1909.

[2]) Pogg. Annal. 84, 321, 1851. Beiträge zur näheren Kenntnis des polymeren Isomorphismus.

[3]) Handb. d. Mineralchemie.

ist eine Steigerung der Intensität der Krystallisations- und hydratischen Kräfte, durch die das Wasser gebunden ist, bemerkbar.

Der Sepiolith gibt das Wasser schon bei über 100° ab; der Serpentin einen Teil bei mäßigem Erhitzen, den Rest beim Glühen, der Talk erst bei 900 bis 1000°.

Diese Eigenschaften der Magnesiumsilicate können durch folgende Formeln gut zum Ausdruck gebracht werden:

$Mg_2Si_3O_8$, $2\,H_2O$ Sepiolith,
$Mg_3H_2Si_2O_8$, H_2O Serpentin,
$Mg_3H_2(SiO_3)_4$ Talk.

Die zu meinen Versuchen benutzten Talke waren nicht rein, sie stammten aus Steiermark; waren teils blätteriger, glimmeriger (Talk), teils derber, körniger Struktur (Steatit), beide krystallinisch.

Der Analyse nach hatten sie folgende Zusammensetzung:

SiO_2	61,85%
MgO	34,52%
Al_2O_3	2,61%
H_2O (chemisch gebunden)	0,60%
Fe_2O_3	0,25%
$CaCO_3$	Spuren
	99,83%

Diese Talke sind demnach durch Aluminiumsilicate, Eisen und Spuren von Calciumcarbonat verunreinigt.

Zieht man in Betracht, daß die Zusammensetzung des reinen Talkes:

SiO_2	63,5%
MgO	31,7%
H_2O	4,8%

der Analyse nach ist, so erkennt man, daß in diesen Talken der chemisch gebundene Wasserstoff durch Aluminium und Magnesium im wesentlichen substituiert worden ist. Daraus dürfte der geringe Gehalt an chemisch gebundenem Wasser zu erklären sein.

Diese Talke sind zwar auch schon bei gewöhnlicher Temperatur der Hydrolyse unterworfen; doch ist der Betrag der Reaktionsgeschwindigkeit, mit der die hydrolytische Spaltung erfolgt, gering; aber bei höherer Temperatur, etwa bei 50°, ist die Reaktion auf Hydroxylionen gleich bemerkbar.

Die Adsorptionsversuche wurden in ähnlicher Weise wie mit den Tonen ausgeführt; lufttrockner, fein gepulverter Talk wurde mit der zu adsorbierenden Lösung zusammengerührt bis zur Koagulation der aus den Talken abgeschiedenen, kolloid gelösten Stoffe, und zwar unter häufigem, tropfenweise erfolgendem Zusatz von 2fach molarer Salzsäure, um diese Abscheidung zu vermehren.

Während des Rührens erfolgt eine ganz bedeutende Volumvermehrung der schaumähnlichen Masse; etwa so wie beim Eiweiß.

Nach mehreren Stunden gießt man Wasser hinzu und trennt die Flüssigkeit von den festen Bestandteilen.

Die Tone adsorbieren folgende Stoffe:

1. kolloid gelöste Substanzen;

2. kompliziert zusammengesetzte, anorganische und organische Farbstoffe;

3. die HCO_3'-, CO_3''-, B_4O_7''-Ionen vollständig, die PO_4'''-Ionen teilweise;

4. ungesättigte Kohlenwasserstoffe von der Konstitution C_nH_{2n}; C_nH_{2n-2} (wenigstens einige Tonarten);

5. starke Gerüche.

Die Adsorptionsfähigkeit der Talke ist auf wenige Stoffe beschränkt; Talke adsorbieren:

1. die kolloid gelösten Substanzen im Urin, in den Fäkalien, im Blut, im Bier, in konzentrierten Seifenlösungen,[1]) ferner Stärke; Jodstärke, Dextrin usw.;

2. alle komplizierter zusammengesetzten Farbstoffe, Teerfarbstoffe, wie Aurin, Anilinblau, Anilingelb, Malachitgrün, Fluorescin usw.;

---

[1]) J. Bain und M. Taylor behaupten neuerdings, daß die normalen Seifen in konzentrierter Lösung keine Kolloide sind. Das ist unrichtig. Vielmehr ist erwiesen, daß verdünnte Seifenlösungen, die elektrolytisch und hydrolytisch gespalten sind, allerdings krystalloiden Charakter haben, dagegen die konzentrierten, wie das die Arbeiten von Kahlenberg, Smiths u. a. dargetan haben, entsprechend ihrem Verhalten in bezug auf Siedepunkterhöhung, Gefrierpunkterniedrigung, Betrag des osmotischen Druckes, Tension usf. in deutlich ausgeprägtem Zustand der Kolloidlösung sich befinden. (Vgl. P. Rohland, Die Wirkungen der Hydroxylionen bei der Seifenfabrikation. Chem. Ind. 30, 20, 1907.)

Pfanzenfarbstoffe, wie Orseille;

tierische Farbstofe, wie Cochenille (Carmin), die Farbstoffe des Blutes, des Urins, ferner des Bieres.

Dagegen konnte die Adsorption der Ionen schwacher Säuren, wie der PO_4''- und B_4O_7''-Ionen nicht beobachtet werden.

Krystalloide und einfach zusammengesetzte gefärbte Stoffe, z. B. Kaliumdichromat, werden nicht adsorbiert. Die Talke besitzen demnach ebenfalls die Eigenschaften der auswählenden Semipermeabilität.

Die Ursachen der Adsorption sind dieselben wie bei den Tonen; auch diese Talke binden in Berührung mit Wasser und Salzsäure Stoffe im Kolloidzustand, die Hydroxyde des Siliciums und Aluminiums und Eisens; die beiden letzteren allerdings in viel geringerer Menge als die Tone.

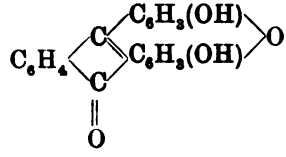
Dadurch werden zahlreiche Grenz- und Trennungsflächen in Berührung mit der zu adsorbierenden Lösung gebildet, an denen sich Kräfte, wie Capillarität und Oberflächenenergie, betätigen.

Kolloide Lösungen und koagulierte Substanzen treten ferner auch hier zu scheinbaren Verbindungen zusammen. Im Sinne der Molekularhypothese erklärt sich das Phänomen der Semipermeabilität dadurch, daß die kleineren Krystalloidmoleküle hindurch gelassen, die größeren Kolloidmoleküle festgehalten werden.

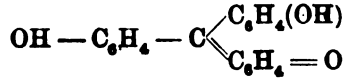
Bei den Anilinfarbstoffen ist noch ein besonderer Umstand hervorzuheben; manche von ihnen, wie Anilinblau usw., werden erst dadurch wasserlöslich, daß sie in ein Salz oder Doppelsalz übergeführt werden. Umgekehrt werden diese löslichen Anilinfarbstoffe wieder vollständig wasserunlöslich nach der Adsorption durch die Talke.

Dabei ist es gleichgültig, welche Konstitution nach der Hypothese der organischen Chemie dem adsorbierten Farbstoff zukommt; bei einigen der genannten Farbstoffe ist die nähere Konstitution überhaupt noch nicht bekannt.

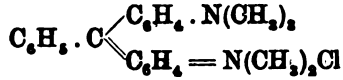
Ob dem Fluorescin die Formel:



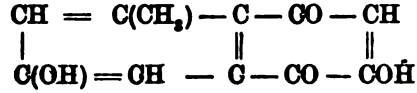
oder dem Auriin die Formel:



oder dem Malachitgrün die Formel:



oder auch dem Carmin (Cochenille), das tierischer Abkunft ist, die Formel:



zugeschrieben wird usw., ist für den Adsorptionsvorgang ohne Bedeutung.

Bei diesen Adsorptionen könnte man im Sinne der organischen Konstitutionslehre an eine Atomverkettung zwischen den Atomen der Magnesiumsilicate und denen der Farbstoffe denken; indessen ist das nicht der Fall. Die adsorbierten Farbstoffmengen sind durchaus variabel; eine stöchiometrische Verbindung findet nicht statt.

Es ist dabei auch belanglos, ob die adsorbierten Farbstoffe basischer, saurer oder neutraler Natur sind.

Auch diese Adsorptionen sind nur dadurch, daß Kolloidstoffe auftreten, ganz wesentlich größeren Umfangs, als es bei jedem System zwischen festen Bestandteilen und Flüssigkeiten der Fall ist.

Die Cholesterinester der Hornschicht.

Von

Unna und Golodetz.

(Eingegangen am 11. April 1910.)

Es tut uns leid, daß der von uns hochverehrte Salkowski durch seine Publikation „Über das Vorkommen von Cholesterinestern in der menschlichen Epidermis und die Reaktionen derselben" uns in die Notwendigkeit versetzt hat, öffentlich[1]) noch einmal zu erklären, weshalb wir seinen Nachweis von Palmitinsäureestern in der menschlichen Hornschicht nicht für sicher erbracht halten können.

Salkowski arbeitete mit 4 g Epidermisschuppen von einem Falle von Dermatitis exfoliativa, die ihm durch Vermittlung von Herrn Geheimrat Prof. Lesser zugegangen waren. Über die Art und Weise, wie diese Schuppen gesammelt waren, erfahren wir nichts. Dermatitis exfoliativa ist eine sehr chronische Erkrankung der Haut, die in allen Fällen wenigstens Monate, meistens aber Jahre andauert. Es gibt keinen Fall dieser Erkrankung, in dem nicht mit oder ohne ärztlichen Rat viele Salben dauernd angewandt werden, nicht nur in der Absicht der Heilung, sondern schon einfach in der Absicht, die Trockenheit der Haut zu mildern. Es gibt ferner keine Hautkrankheit, die so lose haftende und permanent sich abstoßende Hornzellen aufweist; hierdurch wird das Eindringen von Salben zwischen die Hornzellen besonders erleichtert. Es ist nicht anzunehmen, besonders da der Kranke in Berlin behandelt wurde, daß unter den von ihm gebrauchten Salben sich niemals solche mit einer Grundlage von Lanolin oder Adeps lanae befunden haben sollten. Dann ist aber ein Gehalt der Schuppen an künstlich zugeführten Cholesterinestern nicht auszuschließen. Wir wissen aus Erfahrung — gerade an einem eben solchen Falle von Dermatitis exfoliativa, dessen Untersuchungsresultat

[1]) Brieflich haben wir dasselbe schon früher getan.

wir deshalb als wertlos verwerfen mußten —, daß Wollfettsalben der Oberhaut ungemein zäh anhaften. Es ist ferner kaum möglich, diese Hornzellen vor der Elementaranalyse so von äußerlich anhaftenden Wollfetten zu reinigen, daß die in den Hornzellen befindlichen Fettsäureester nicht ebenfalls angegriffen werden.

Alle diese Umstände mögen **zufällig** in der von Salkowski untersuchten Hornschicht nicht vorhanden gewesen sein. Aber darauf darf sich doch kein Untersucher verlassen. Diese Umstände hätten in der ursprünglichen Publikation doch berücksichtigt und **einzeln ausgeschlossen werden müssen.**

Principiis obsta! Wenn die physiologisch-pathologische Chemie der Haut Fortschritte machen soll, müssen in Zukunft alle Angaben sich auf ein absolut einwandfreies Material beziehen, wie es unserer Arbeit über die Hautfette zugrunde gelegen hat.

Für den Nachweis, daß im Extrakt der Schuppen gerade Cholesterinpalmitat vorliegt, stützt sich Salkowski auf die elementaranalytischen Zahlen. Seine Analyse ergab C = 82,41 und H = 12,43, was mit der Theorie (C = 82,62 und H = 12,13) in der Tat ausgezeichnet stimmt. Indessen, wenn man sich die Zahlen vom Stearat (C = 82,76 und H = 12,22), vom Oleat (83,02 und 11,95) und schließlich vom Cholesterin selbst (83,87 und 11,83) ansieht, so ergibt sich ein derartiges dichtes Aneinanderliegen der Zahlen, daß es gewagt erscheint, lediglich auf Grund von analytischen Daten eine Entscheidung über die genaue Zusammensetzung des Esters zu treffen.

Salkowski kritisiert ferner die angewandte spektrometrische Bestimmungsmethode des Cholesterins und meint, daß man auf Intensitätsunterschiede der Absorptionsstreifen keine quantitativen Bestimmungen gründen könne. Wenn auch die Methode naturgemäß nicht auf eine besondere Exaktheit und Genauigkeit Anspruch erheben darf, so war sie doch damals in Ermangelung einer anderen Methode ebenso geeignet wie die vielfach gebräuchlichen colorimetrischen Methoden. Übrigens hatten wir neuerdings durch Entgegenkommen von Windaus Gelegenheit, die neue von ihm empfohlene gewichtsanalytische Bestimmungsmethode des Cholesterins vermittelst Digitonin bei Vernix caseosa anzuwenden und fanden eine sehr befriedigende Übereinstimmung zwischen dieser neuen Methode und der von uns gebrauchten spektrometrischen.

Erwiderung auf die Mitteilung von Unna und Golodetz: „Über die Cholesterinester der Hornschicht."

Von

E. Salkowski.

(Eingegangen am 21. April 1910.)

Die Einwendungen von Unna und Golodetz gegen die Beweiskraft meines Nachweises von Cholesterinpalmitat in der Epidermis kann ich nicht als berechtigt anerkennen.

1. Gewiß liegt die Möglichkeit, meinetwegen sogar Wahrscheinlichkeit vor, daß der Pat., von dem die fraglichen Epidermisschuppen stammten, einmal mit Salben behandelt ist, deren Grundlage Lanolin oder Adeps lanae war, aber was beweist das gegen mich? Nichts! Ich schlage den Autoren den Versuch vor, doch einmal Lanolin mit 93%igem Alkohol auszukochen und zuzusehen, was sich aus der heiß filtrierten Lösung ausscheidet. Sie werden sich dann überzeugen, daß sich beim Erkalten eine schmierige zähe Masse ausscheidet, niemals aber seidenglänzende, schneeweiße Krystalle vom Schmelzpunkt 77° bis 78°. Daß der von mir gefundene Cholesterinester aus in der Epidermis hängengebliebenem Lanolin stammen könne, wie U. und G. meinen, ist gänzlich ausgeschlossen.

2. Gegen die von mir mitgeteilte Elementaranalyse wenden die Autoren ein, daß die C- und H-Zahlen für das Oleat und Stearat des Cholesterins, ja selbst für das Cholesterin so nahe an denen des Palmitinsäureesters lägen, daß es „gewagt erscheint, lediglich auf Grund analytischer Daten eine Entscheidung über die genaue Zusammensetzung des Esters zu treffen". Das wäre allerdings sehr gewagt, ja, ich gehe noch weiter und sage sogar: unmöglich! Das habe ich aber auch gar nicht getan. Unter den vielen Tausenden bekannter che-

mischer Verbindungen mag es noch manche geben, die eine ähnliche Elementarzusammensetzung zeigen wie der Palmitinsäurecholesterinester. Die Elementaranalyse dient in solchen Fällen, wie der vorliegende, immer nur dazu, die aus den sonstigen Daten, im vorliegenden Falle den allgemeinen Eigenschaften, Reaktionen, Schmelzpunkt, gewonnene Ansicht über die Natur der Verbindung zu bestätigen — oder zu widerlegen. Allgemeines Verhalten, Reaktionen, Schmelzpunkt, Elementarzusammensetzung — ja! wem das nicht zur Identifizierung einer bekannten Verbindung genügt, dem ist überhaupt kaum etwas zu beweisen. Höchstens könnte man meinen, es könne auch der Stearinsäureester vorgelegen haben, dessen Schmelzpunkt zu 82° angegeben wird, also durch Verunreinigungen leicht auf 77 bis 78° herabgedrückt werden könnte; aber erstens liegt gar kein Grund vor, Verunreinigungen anzunehmen und zweitens spricht dagegen die Löslichkeit in heißem 93%igem Alkohol. In physiologischer Beziehung wäre es natürlich ganz gleichgültig, ob der von mir aus den Epidermisschuppen isolierte Körper der Palmitin- oder Stearinsäureester war, es liegt aber, wie gesagt, durchaus kein Grund vor, das letztere anzunehmen.

Ich muß also dabei bleiben, daß ich einen vollgültigen Beweis für das Vorkommen des Palmitinsäureesters des Cholesterins in der menschlichen Epidermis geliefert habe.

Tatsächliche Berichtigungen auf die Erwiderung von Bechhold und Ziegler zu meinen „Kritischen Bemerkungen" über ihre Arbeit: Vorstudien über Gicht.

Diese Zeitschr. 20, 189, 1909 und 24, 107, 1910.

Von

Gudzent.

(Eingegangen am 26. März 1910.)

Bechhold und Ziegler bringen einige Prioritätsansprüche. Darauf sei tatsächlich festgestellt:

1. Daß Harnsäure nicht als solche, sondern nur als Mononatriumurat (genauer Urat-Anion und Na-Kation) im Blut enthalten sein kann, ist von mir bereits am 27. Mai 1909 (Deutsche med. Wochenschr. 21, 921, 1909), dann am 5. Juli 1909 in einem Vortrag im Verein für innere Medizin in Berlin mitgeteilt worden.

Die Arbeit von Bechhold und Ziegler erschien aber erst Ende August 1909.

Ebenso habe ich damals, also lange vor dem Erscheinen der Arbeit von Bechhold und Ziegler, ausgeführt, daß das Blut unter gewissen Umständen, vorzugsweise bei der Gicht, mit Mononatriumurat übersättigt sein kann.

2. Daß das Mononatriumurat das polarisierte Licht in einem bestimmten Winkel auslöscht, wurde von Dr. Tannhäuser aus dem mineralogischen Institut der technischen Hochschule Charlottenburg und mir festgestellt und bereits am 26. März 1909 in der Arbeit: Physikalisch-chemisches Verhalten der Harnsäure und ihrer Salze in Lösungen (Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, Heft 1) mitgeteilt.

Weiter ist tatsächlich festzustellen: Ich habe im natürlichen Serum nicht 5 mg Mononatriumurat in 100 ccm, sondern 7,1 mg gelöst gefunden. Bei der Methode nach Krüger-Schmidt ist unter den gegebenen Bedingungen mit einem Verlust von ca. 2 mg Mononatriumurat auf 100 ccm Serum zu rechnen.

Die Einwendungen von Bechhold und Ziegler gegen diese allgemein anerkannte Tatsache sind hinfällig.

Schließlich sei zur Präzisierung meines Standpunktes noch folgendes gesagt: Maßgebend für die Lösungsbedingungen von

Harnsäure in Serum ist in erster Linie ihr Verhalten zu den darin vorhandenen Säuren und Basen. Diese allein bestimmen, soweit bisher zu ersehen, das endgültige Lösungsgleichgewicht. Nun ist die Erscheinung, daß unter den einfachsten Bedingungen übersättigte Lösungen oft erst nach langer Zeit durch mehr oder weniger schnelles Auskrystallisieren sich ihrem Lösungsgleichgewicht nähern, eine wohlbekannte Tatsache. Es spielen hierbei allerlei bekannte und teilweise noch unbekannte mechanische Ursachen eine wichtige Rolle. Vom Mononatriumurat läßt sich nun experimentell ein ähnliches Verhalten schon in wässeriger Lösung, mehr noch im künstlichen und natürlichen Serum erweisen. Im natürlichen Serum tritt zudem die Gegenwart von organischen und vor allem von kolloiden Substanzen als ein weiteres, in ihren Einwirkungen noch wenig studiertes Moment hinzu, wodurch rein mechanisch nach Analogie von Beobachtungen an anderen Stoffen, die Einstellung des Lösungsgleichgewichtes noch viel länger verzögert, sogar lange Zeit hindurch gehemmt werden kann. Die Arbeiten von Bechhold und Ziegler bewegen sich nun in der Richtung, die Rolle aufzuklären, welche die kolloiden Bestandteile des Serums bei der Lösung von Harnsäure und ihrer Salze spielen. Sie lassen jedoch gegenwärtig keinerlei Schlüsse zu, weil sie sich, wie ich nachgewiesen habe, auf Voraussetzungen aufbauen, die mit physikalisch-chemischen Gesetzmäßigkeiten in Widerspruch stehen. Auch die letzte Mitteilung läßt die Anerkennung der physikalisch-chemischen Grundgesetze vermissen. In dem Maße nämlich, wie sich aus der zum Serum zugesetzten Harnsäure Mononatriumurat bildet, nimmt die Konzentration derjenigen Na-Ionen ab, welche die Löslichkeitserniedrigung des Mononatriumurats auf 8,3 mg bedingen. Demzufolge wird in der Versuchsanordnung von Bechhold und Ziegler die endgültige Löslichkeit des Mononatriumurats größer sein als 8 mg. Der Wert läßt sich nach dem Nernstschen Löslichkeitsgesetz in jedem Falle genau berechnen. Bechhold und Ziegler aber lassen dieses fundamentale Gesetz wieder außer acht. Deshalb können auch ihre neuerlichen Mitteilungen nicht die Bedeutung von Gesetzmäßigkeiten beanspruchen.

Erst wenn Bechhold und Ziegler diesen Standpunkt anerkennen und die Tatsachen in bezug auf Datum und Inhalt meiner Mitteilungen nicht ignorieren, kann eine weitere Debatte von Nutzen sein.

Das Schicksal intermediärer Harnsäure beim Menschen und der Allantoingehalt des menschlichen Harns; nebst Bemerkungen über Nachweis und Zersetzlichkeit des Allantoins.

Von

Wilhelm Wiechowski.

(Aus dem pharmakologischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 31. März 1910.)

I.

In vorausgegangenen Arbeiten[1]) habe ich im Hinblick auf die pharmakologische Durcharbeitung des Harnsäureproblems das Schicksal von im Säugetierkörper zirkulierender bzw. in den Organen entstehender Harnsäure einer Untersuchung unterzogen, deren Ergebnis sich in folgenden Sätzen zusammenfassen läßt: 1. Überlebende Säugetierorgane, die Harnsäure zu zerstören vermögen, oxydieren die $\overline{U}$ vollständig zu Allantoin ohne dieses weiter zu zersetzen. 2. Die Säugetiere scheiden dauernd reichlich Allantoin neben sehr wenig Harnsäure im Harne aus. 3. Die Allantoinausscheidung vorher purinfrei ernährter Hunde und Kaninchen nimmt beim Hungern nicht ab. 4. Parenteral gegebene Harnsäure wird von Hunden und Kaninchen vollständig, und zwar zum größten Teil als Allantoin und nur zu einem sehr geringem Teil als Harnsäure ausgeschieden.

Diese Befunde wurden in der Folge durchgehends bestätigt, und zwar die reichliche Allantoinausscheidung neben minimalen Harnsäurewerten bei Hunden und Kaninchen von

[1]) Die Produkte der fermentativen Harnsäurezersetzung durch tierische Organe. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 295, 1907. — Die Bedeutung des Allantoins im Harnsäurestoffwechsel. Ebenda, 11, 109, 1907.

Schittenhelm und Seisser[1]) und Abderhalden und Einbeck[2]); die Allantoinausscheidung im Hunger von Underhill und Kleiner[3]) und A. Schittenhelm[4]); der Übergang von parenteral gegebener Harnsäure in Allantoin von Schittenhelm und Seisser[5]). Auch der Schluß, den ich aus diesen Befunden gezogen habe, daß das Endprodukt der ausgiebigen Harnsäurezersetzung beim Säugetier das Allantoin sei, wurde akzeptiert[6]) und fand insbesondere in den eingehenden Versuchen von Schittenhelm und Seisser[7]) über das Schicksal per os gereichter Nucleinsäure beim Hund eine schöne Bestätigung. Es dürfte demnach jetzt wohl als feststehend angesehen werden, daß neben dem Allantoin keine anderen Produkte (Oxalsäure, Glykokoll, $\overset{+}{U}$) aus dem intermediären Harnsäurestoffwechsel der Säugetiere hervorgehen.

Gegenüber einzelnen Stellen in der jüngsten Literatur, die diese Erkenntnis als etwas Selbstverständliches hinzustellen scheinen, darf ich hier vielleicht darauf hinweisen, daß erst durch die erwähnten Befunde die bisher durchaus unsicheren Vorstellungen über das Harnsäureschicksal im Säugetier einer Klärung zugeführt worden sind. War doch bis dahin nur für den Hund ein Übergang von Harnsäure in Allantoin, aber auch z. T. in Harnstoff und das nicht einmal allgemein angenommen worden (Salkowski)[8]), während für das Kaninchen ein Übergang in Harnstoff bzw. Oxalsäure als tatsächlich galt, so daß ein wesentlicher Unterschied zwischen Fleisch- und Pflanzenfressern quoad Harnsäurezersetzung angenommen wurde (Burian)[9]) bzw. die Bedeutung des Allantoins ganz unsicher war (Wiener)[10]). Dieser Sachverhalt findet übrigens auch

[1]) Über die Beeinflussung des Stoffwechsels von Kaninchen usw. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 116, 1909.

[2]) Abbau des Histidins usw. Zeitschr. f. phys. Chem. 62, 329, 1909.

[3]) Stoffwechsel des Hundes bei Inanition. Journ. of Biolog. Chem. 4, 165, 1908.

[4]) Über die Umsetzung verf. Nucleins. usw. Zeitschr. f. phys. Chem. 62, 80, 1909.

[5]) l. c.

[6]) Abderhalden und Einbeck, l. c. Schittenhelm, l. c.

[7]) l. c.

[8]) Über das Verhalten in den Magen eingeführter Harnsäure usw. Zeitschr. f. phys. Chem. 35, 494, 1902.

[9]) Die Bildung und Ausscheidung der Harnsäure usw. Med. Klinik 1905.

[10]) Ergebn. d. Phys. v. Asher, Spiro, 1, 1902: „Es ist demnach weder die Oxalsäure noch das Allantoin . . . als Zersetzungsprodukt der Harnsäure im Körper erwiesen."

in einer jüngst von Abderhalden[1]) gemachten Bemerkung Ausdruck, wie nicht minder darin, daß auch noch in der allerletzten Zeit das Ausmaß des Purinstoffwechsels bei Hund und Katze gelegentlich durch Harnsäurebestimmungen im Urin ermittelt wird.[2])

Das Studium[3]) der analogen Verhältnisse beim Menschen hat mich aber zu Ergebnissen geführt, die in jedem einzelnen Punkte den beim Tiere erhobenen Befunden entgegengesetzt waren.

Zunächst konnte ich gegenüber früheren Angaben feststellen, daß überlebende menschliche Organe Harnsäure nicht zu zersetzen vermögen. Ferner gelang es mir zu zeigen, daß auch der Mensch stets Allantoin ausscheide, daß aber diese Ausscheidung nur minimal ist und neben der reichlichen Harnsäureausscheidung so weit zurücktritt, daß ihr eine praktische Bedeutung für den Harnsäurestoffwechsel nicht zukommt;[4]) insbesondere auch weil ich feststellen konnte, daß das Allantoin jenseits der Darmwand vom Menschen ebensowenig wie von den übrigen Säugern zersetzt wird, somit auch hier ein terminales Produkt darstellt. Schließlich konnte ich in Überein-

---

[1]) Abderhalden und Einbeck, l. c.: „Nach den Beobachtungen von Wiechowski wird man in Zukunft beim Hunde die Beziehungen bestimmter Verbindungen zur Puringruppe in erster Linie durch Verfolgung der Allantoinbildung zu prüfen haben."

[2]) Biernacki, Beziehg. z. d. Gesamtstoffwechsel u. d. Harnsäureausscheidung. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 134, 1909. — Bieberfeld und Schmid, Resorptionswege d. Purinkörper. Zeitschr. f. phys. Chem. 60, 293, 1909. — Guido Izar, Über d. Einfluß von Silberhydrosolen u. Salzen usw. Diese Zeitschr. 20, 266, 1909.

[3]) Zur Harnsäurefrage, Prager med. Wochenschr. 32, 543, 1907. — Über d. Verhalten d. Harns. im menschl. Organismus. Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 1908, 2. Hälfte, S. 97. — Über d. Zersetzlichkeit d. Harns. im menschl. Organismus. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 185, 1909. — Das Vorhandensein v. Allantoin im normalen Menschenharn usw. Diese Zeitschr. 19, 368, 1909.

[4]) In dieser Beziehung ist der Unterschied zwischen dem Harn des Menschen und dem der übrigen Säugetiere bis zu den geschwänzten Affen hinauf so auffallend, daß man ihn zur Unterscheidung von Menschen und Tierharn verwenden könnte. Es wird übrigens vielleicht bei fleißigem Suchen gelingen, Säugetiere zu finden, die sich in dieser Beziehung dem Menschen nähern (die anthropoiden Affen?), oder man wird möglicherweise bei den einzelnen Menschenrassen Unterschiede im Ausmaß der Allantoinausscheidung feststellen können.

stimmung mit früheren Untersuchern[1]) zeigen, daß subcutan an Menschen gegebene Harnsäure (im Gegensatz zum Verhalten der übrigen Säugetiere) zum größten Teile unverändert mit dem Harne wieder ausgeschieden wird.

Auch diese Beobachtungen wurden in der Folge von Nachuntersuchern sämtlich bestätigt:

Die Impotenz menschlicher Organe gegenüber der Harnsäure von Battelli und Stern[2]), Miller und Jones[3]), Gideon Wels und Corper[4]) und Schittenhelm[5]); die reichliche Ausscheidung parenteral an Menschen gegebener Harnsäure von Gyulo von Benczúr[6]), das Vorhandensein geringster Allantoinmengen im Menschenharn und die Unangreifbarkeit des Allantoins im menschlichen Körper von Schittenhelm und Wiener[7]).

Der Schluß jedoch, den ich aus diesem in jeder Einzelheit gegensätzlichen Verhalten des Menschen den übrigen Säugern gegenüber gezogen habe, daß nämlich das Harnsäureoxydationsvermögen des Menschen nur ein minimales, praktisch bedeutungsloses sei und in der geringen Allantoinausscheidung seinen Ausdruck finde, wurde nicht anerkannt. Im Gegenteil, es wird namentlich von Frank und Schittenhelm[8]) und Gyulo von Benczúr[9]) daran festgehalten, daß die Harnsäurezetzung im Menschen eine ausgiebige sei und unter dem Eindrucke der

---

[1]) Ibrahim und Soetbeer, Über das Schicksal eingeführter Harnsäure usw. Zeitschr. f. phys. Chem. 35, 1, 1902.

[2]) Untersuchungen über die Urikase in Tiergeweben. Diese Zeitschr. 19, 219, 1909.

[3]) Über die Fermente des Nucleinstoffwechsels bei der Gicht. Zeitschr. f. phys. Chem. 62, 396, 1909.

[4]) Beobachtungen über Uricolyse usw. Journ. of Biolog. Chem. 6, 321, 1909.

[5]) Über d. Ferm. des Nucleinstoffw. menschl. Org. Zeitschr. f. phys. Chem. 63, 248, 1909.

[6]) Über d. Ausscheidung intramuskulär eingef. Harns. usw. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 339, 1909.

[7]) Über d. Vorkommen u. d. Bedeutung v. Allantoin im menschlichen Urin. Zeitschr. f. phys. Chem. 63, 283, 1909.

[8]) F. Frank und A. Schittenhelm, Über die Umsetzung verfütterter Nucleinsäure beim normalen Menschen. Zeitschr. f. phys. Chem. 63, 269, 1909.

[9]) l. c.

neuen Allantoinbefunde die folgerichtige Annahme gemacht (Schittenhelm), daß die menschliche Uricolyse im innersten Wesen von der der anderen Säuger verschieden sei, indem sie nicht zu Allantoin führe, sondern direkt Harnstoff oder ein anderes in der Harnstofffraktion enthaltenes, bisher unbekanntes Produkt entstehen lasse. Die trotz der Anerkennung der tatsächlichen Befunde entgegengesetzte Schlußfolgerung baut Schittenhelm auf folgende Punkte auf:

1. Die bei der Prüfung überlebender menschlicher Organe erhaltenen negativen Resultate beweisen nichts, weil eine allfällige Uricolyse durch die Wirkung von hemmenden Substanzen verhindert werden konnte; und ferner weil das Ergebnis von Versuchen an Hunden mit Eckscher Fistel dafür spricht, daß es im Leben eine Uricolyse gibt, die post mortem an den betreffenden Organen nicht nachweisbar ist.

2. Die Ergebnisse der subcutanen Harnsäureinjektionen sind ungeeignet, die Frage zu entscheiden, weil durch die Einführung von Harnsäure in die Blutbahn der Stoffwechsel hochgradig verändert wird.

3. Nach Verfütterung von Nucleinsäure an Menschen findet man im Gegensatz zur parenteralen Einführung von Harnsäure trotz völliger Ausnutzung nur einen sehr geringen Teil des eingeführten Basenstickstoffes als Harnsäure, die Hauptmasse in der Harnstofffraktion des Harns wieder.

4. Das Allantoin des menschlichen Urins entstammt wahrscheinlich nicht der Harnsäure, da seine Ausscheidungsgröße keine Beziehungen zu Schwankungen des Purinhaushaltes aufweist. Es entstammt vielmehr möglicherweise der Nahrung, weil der Harn unter purinfreier Diät allantoinfrei befunden wurde.

Nur der letzte dieser Einwände kommt für eine experimentelle Prüfung in Betracht, und ich teile weiter unten die Ergebnisse einiger Versuche über diesen Gegenstand mit. Vorher aber sollen die ersten drei Einwände auf ihre Stichhaltigkeit geprüft werden.

Die Mangelhaftigkeit der Beweiskraft von negativen Organversuchen deduziert Schittenhelm 1. aus dem möglichen Vorhandensein hemmender Substanzen und 2. aus dem Ergebnis von Versuchen bei Hunden mit Eckscher Fistel, wo trotz

Ausschaltung der Leber die verfütterte Nucleinsäure in großem Umfange in Allantoin überführt wurde, wie wohl die Leber das einzige Organ des Hundes sein soll, das postmortale Harnsäureoxydation aufweist. Es müsse demnach beim Hunde auch eine intravital tätige, aber nicht überlebende Harnsäureoxydation geben, und mit dieser Möglichkeit sei auch beim Menschen zu rechnen.

Was das Vorkommen von die Harnsäureoxydation der überlebenden Organe hemmenden Substanzen in den Organen anbelangt, so wurde dasselbe zuerst von Wiechowski und Wiener[1]) beobachtet. Später finden sich ähnliche Beobachtungen bei Kinzel und Schittenhelm[2]) und Battelli und Stern[3]). Es steht jedenfalls fest, daß die Harnsäureoxydase durch verschiedene, auch in den Organen vorhandene Stoffe beeinträchtigt, ja zerstört werden kann. Ich glaube aber, daß diese Tatsache kein zureichender Grund ist, den negativen Organversuchen jede Beweiskraft abzuerkennen; und zwar deshalb nicht, weil überlebende menschliche Organe die Wirkung anderer Purinfermente, insbesondere der Xanthinoxydase und Guanase ganz hervorragend zu leisten vermögen. Wenn — wie es tatsächlich von allen Beobachtern bestätigt wird — menschliche Organe sehr bereitwillig aus Guanin und Xanthin Harnsäure bilden, diese aber nicht weiter abbauen im Gegensatz zu tierischen Organen, welche die Harnsäure weiter zu Allantoin oxydieren, so scheint mir in dem Zusammenhalten dieser Befunde ein zur Beurteilung des Harnsäureschicksals im Menschen vollwertiges Beweisstück gegeben zu sein. Was aber den Befund anbelangt, daß Hunde mit Eckscher Fistel noch reichlich Harnsäure zu oxydieren vermögen,[4]) so kann ich hierin nicht ohne weiteres — zum mindesten vorläufig — den Beweis erblicken, daß es eine intra vitam tätige, am überlebenden Organ aber nicht nachweisbare Harnsäureoxydation gebe.

---

[1]) Über Eigenschaften und Darstellung usw. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 271, 272, 1907.

[2]) Über den zeitlichen Ablauf der Uricolyse. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 5, 1908.

[3]) l. c.

[4]) Abderhalden, London und Schittenhelm, Zeitschr. f. phys. Chem. 61, 413, 1909.

Erstens sind alle Hundeorgane in dieser Beziehung noch nicht untersucht, und zweitens ist nicht ersichtlich, ob in den erwähnten Versuchen auch die Art. hepat. unterbunden, somit die Leber wirklich vollständig vom Kreislauf ausgeschaltet war. Daß die Leber trotz Anlegung der Eckschen Fistel in den Versuchen noch tätig gewesen ist, scheint mir aus der langen Lebensdauer der Tiere hervorzugehen.

Ich gehe nun zu den gegen die subcutane Injektion von Harnsäure erhobenen Bedenken über und bespreche unter einem die angeblich inappelable Beweiskraft der Fütterungsversuche mit Nucleinsäure, die fast genau das Gegenteil von dem zutage gefördert haben, was die parenterale Zufuhr von Harnsäure ergeben hatte. Es ist zuzugeben — und ich habe es selbst besonders hervorgehoben[1]) —, daß die subcutane Injektion von Harnsäure den Stoffwechsel stark beeinflußt. Diese Stoffwechselstörung kann aber das Ergebnis nicht erklären, daß der größte Teil von parenteral an Menschen gegebener Harnsäure unverändert ausgeschieden wird; denn von Hunden und Kaninchen werden verhältnismäßig weit höhere Harnsäuregaben nach parenteraler Zufuhr zum größten Teil zu Allantoin abgebaut, und die gleichzeitige Harnsäureausscheidung ist nur gering. Schittenhelm[2]) selbst hat mit Bendix gezeigt, daß das Kaninchen von intravenös eingespritzter Harnsäure nur sehr wenig ausscheidet. Daran ändert auch der jüngst von Schittenhelm[3]) mitgeteilte Versuch nichts, in welchem nach intravenöser Injektion von nucleinsaurem Natrium eine über das Maß des Gereichten hinausgehende Purinausscheidung beobachtet wurde. (Übrigens ist diese nicht ganz so groß, wie Schittenhelm berechnet: statt der gegebenen 0,13 g Purin-N wurden rund 0,19 bzw. statt der sich aus den vorausgegangenen Fütterungsversuchen berechnenden 0,12 Allantoin 0,13 ausgeschieden.) Diese Giftwirkung muß man in Kauf nehmen, aber sie hindert nicht, wie die Tierversuche gezeigt haben, zu richtigen Schlüssen zu gelangen. Ich sage, man muß die Giftwirkung in Kauf nehmen, weil gar kein anderer als der parenterale

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 201, 1909.

[2]) Bendix und Schittenhelm, Über die Ausscheidungsgröße usw. Zeitschr. f. phys. Chem. 42, 461, 1904.

[3]) Zeitschr. f. phys. Chem. 62, 86ff., 1909.

Weg zur Entscheidung der hier allein interessierenden Frage möglich ist: Was geschieht mit der intermediär im Stoffwechsel vorhandenen, mit der zirkulierenden Harnsäure jenseits der Darmwand? Um diese Frage zu studieren, muß man eben die Harnsäure unmittelbar in die Zirkulation einführen, die parenterale Injektion ist also hier kein widernatürlicher, sondern der einzig natürliche Weg. Ja, ich muß geradezu den Standpunkt einnehmen, daß alle anders angestellten Versuche in dieser Frage nichts zu entscheiden vermögen. Im besonderen gilt das für die mir entgegengehaltenen Versuche, in denen nucleinsaures Natrium per os gereicht wurden. Wenn danach bei quantitativer Ausnutzung nur wenige Prozente der sich aus dem Basengehalt der Nucleinsäure berechnenden Harnsäuremengen im Harne zur Ausscheidung gelangen, so beweist das bei weitem nicht, daß Harnsäure intermediär zerstört worden ist. Es wird bei der Diskussion dieser Frage auch von anderer Seite stets die unbewiesene Voraussetzung gemacht, daß bei Nucleinfütterung der gesamte Basenstickstoff intermediär in Harnsäure übergehe. Wer hat solches bewiesen? Ja, läßt sich das überhaupt für den Menschen beweisen, da wir (abgesehen von den Allantoinspuren) kein wohl charakterisiertes Abbauprodukt der Harnsäure im menschlichen Harn finden?

Stelle ich die Befunde von Schittenhelm und mir zusammen, so ergibt sich: Per os gereichte Nucleinsäure wird vom Hunde nahezu quantitativ zu Allantoin verarbeitet, Kaninchen scheiden hierbei (ich verweise besonders auf diese von Schittenhelm und Seißer gemachte Beobachtung) nur 40 bis 50% von dem Basenstickstoff als Allantoin aus, und gesunde Menschen wiederum scheiden in wechselnder Menge nur 5 bis 50% des verfütterten Basenstickstoffs als Harnsäure aus.[1]) Subcutan gereichte Harnsäure wird von Kaninchen und

[1]) An dieser Stelle möchte ich übrigens eine mißverständliche Auffassung, die eine Bemerkung von mir zu diesem Gegenstande gefunden hat, berichtigen. Ich habe (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 205, 1909) das nach subcutanen Harnsäureinjektionen am Menschen bisweilen beobachtete geringe Defizit an Harnsäure, das die Ausscheidung gegenüber der Zufuhr aufwies, durch „Stauung" und langsame, unmerkliche Ausscheidung des Restes erklärt. Es ist mir aber nie in den Sinn gekommen, den nach Purinkörperfütterung zur quantitativen Ausschei-

Hund zum größten Teil als Allantoin, zum geringen nur als Harnsäure, von Menschen dagegen zum größten Teil (bis 90%) als Harnsäure ausgeschieden, während ein geringer Bruchteil nicht wiedergefunden wird. In dieser Zusammenstellung scheinen mir die Befunde, in Anbetracht der Unangreifbarkeit des Allantoins im Stoffwechsel jenseits der Darmwand, nur zu beweisen, daß aus per os genommener Nucleinsäure bei den verschiedenen Tieren und beim Menschen verschiedene Mengen von Harnsäure für den Stoffwechsel jenseits der Darmwand hervorgehen; aber die Befunde widersprechen einander nicht in Hinsicht der Zerstörbarkeit oder Beständigkeit von intermediärer Harnsäure im Menschen. Für diese Auffassung, daß für das Ergebnis der Fütterungsversuche der von Tier zu Tier wechselnde Zustand des Darmes maßgebend sein mag, scheinen mir auch die folgenden jüngsten Befunde Schittenhelms[1]) verwertbar zu sein. Nach Fütterung von Nucleinsäure scheiden verschiedene Menschen höchst wechselnde Beträge von Harnsäure bzw. Gesamtpurin aus, so in den zitierten Versuchen 7,1%, 19,4% und 43,2% des verfütterten Basenstickstoffs als Purinstickstoff. Auch der Gang der durch die Nucleinsäurefütterung veranlaßten Phosphorsäureausscheidung ist bemerkenswert, indem um so mehr Phosphorsäure im Kot und um so weniger im Harne gefunden wird, je geringer die Purinausscheidung im Harne ausfällt und umgekehrt. Bei 7,1% Purinausscheidung finden wir 0,4 P_2O_5 im Harn und 1,2 P_2O_5 im Kote; bei 19,4% Purinausscheidung 0,5 P_2O_5 im Harne und 0,9 P_2O_5 im Kote; bei 43,2% Purinausscheidung 1,0 P_2O_5 im Harne und nur 0,35 P_2O_5 im Kote. Diese Verhältnisse erinnern durchaus an jene Versuche O. Löwis[2]), in denen nach Thymusgenuß von verschiedenen Menschen Harnsäure und

---

dung des Basenstickstoffs als Harnsäure fehlenden Betrag in der gleichen Weise zu erklären, wie mir von Schittenhelm (Zeitschr. f. phys. Chem. 68, 281, 1909) und G. v. Benczúr (Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 339, 1909) vorgehalten wird. Meine Äußerungen hierüber sind ganz eindeutig. Für das in Rede stehende Verhalten per os gereichter Purinsubstanzen habe ich l. c. S. 206 den Darm verantwortlich gemacht und intermediäre Kräfte abgelehnt.

[1]) Frank u. Schittenhelm, Zeitschr. f. phys. Chem. 63, 269, 1909.

[2]) Beitr. z. Kenntnis d. Nucleinstoffw., Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 44, 1, 1900.

Phosphorsäure in demselben Verhältnis ausgeschieden wurden, wenn auch hier die Verhältniszahlen zwischen der Mehrausscheidung von Harnsäure und der von Phosphorsäure nicht konstant sind. Scheinen hiernach die Vorgänge im Darm für das Ergebnis der Nucleinsäurefütterungen in erster Linie maßgebend zu sein, so ergibt sich aus einer andersartigen Betrachtung dieser Versuche die Unwahrscheinlichkeit, daß die Resultate in intermediärer Uricolyse begründet wären. In dem ersten der mitgeteilten Versuche findet Schittenhelm 92,7%, in dem zweiten 88,6% des resorbierten und verarbeiteten Basen-N als Harnstoff, den Rest als Harnsäure im Urin. Die beiden Menschen müßten, wenn dieses Resultat für das Ausmaß ihrer Uricolyse jenseits der Darmwand gültig sein soll, über ein dem Hunde fast gleichkommendes Harnsäurezersetzungsvermögen verfügen. Aus den endogenen Harnsäurewerten des Urins würde sich berechnen, daß die erste Versuchsperson 4,5, die zweite 2,4 g endogener Harnsäure in 24 Stunden intermediär in ihrem Körper gebildet und umgesetzt hätte. Wie verträgt sich die hieraus zu folgernde hochgradige Uricolyse mit den Befunden von Weintraut[1]) und denen von Bloch[2]), welche Autoren nach gleichfalls per os gereichten Purinen (Thymus) bzw. Nucleinsäure am Tage nach der Fütterung der eine 7 mg, der andere 8 mg reine Harnsäure aus dem Aderlaßblut gesunder Menschen darstellen konnten; wie mit den Funden endogener Harnsäure im Blute bei Niereninsuffienz, von den Harnsäurefunden in den Leichenteilen nicht Gichtischer ganz zu schweigen?

Die Fütterungsversuche mit Nucleinsäure sind also einerseits ganz ungeeignet, das Problem der intermediären Uricolyse zu lösen; bei kritischer Prüfung zwingen ihre Ergebnisse aber andererseits auch gar nicht zur Annahme einer umfangreichen Uricolyse im menschlichen Körper jenseits der Darmwand; im Gegenteil eine derartige Auslegung würde gelegentlich zu Vorstellungen führen, die mit tatsächlichen Befunden nicht vereinbar sind.

Was schließlich den Allantoingehalt des menschlichen Harnes anlangt, so habe ich seine Größe analog den Verhältnissen beim Tier als ein Maß für die intermediäre Harnsäurezersetzung an-

[1]) Harnsäure im Blut usw. Wiener klin. Rundschau 1906, Nr. 1.
[2]) Beiträge z. Kenntnis usw. Arch. f. klin. Med. 83, 517, 1905.

gesehen und, da sich das Allantoin im Säftestrom des menschlichen Körpers gleichfalls als beständig erwiesen hat, in seiner Geringfügigkeit eine willkommene Stütze für den aus dem Ergebnis der zitierten Versuche mit überlebenden Organen und subcutanen Harnsäureinjektionen abgeleiteten Schluß erblickt, daß der Mensch nur sehr geringe Bruchteile seiner zirkulierenden Harnsäure zu zersetzen vermag. Schittenhelm[1]), der die Allantoinbefunde bestätigt, wendet gegen ihre Beweiskraft ein, daß dem Allantoin im Menschenharn wahrscheinlich nicht dieselbe Bedeutung zukomme wie im Tierharn, und zwar deswegen, weil er im Harn bei purinfreier Diät kein Allantoin nachweisen konnte und zweitens bei purinreicher Kost eine Steigerung der minimalen Allantoinausfuhr vermißte, somit einerseits eine Abhängigkeit vom Purinstoffwechsel nicht feststellbar war, andererseits die Wahrscheinlichkeit bestand, daß das Allantoin präformiert mit der Nahrung eingeführt worden sei. Da auch Schittenhelm (ebenda) das Allantoin im Menschen unangreifbar fand, war die Frage jedenfalls berechtigt, ob das Allantoin des menschlichen Urins nicht mit der Nahrung in den Körper gelange. Als Nahrungsmittel kommen hierfür aber nicht nur die purinhaltigen animalischen, sondern auch Vegetabilien in Betracht. Ja, die letzteren sind in dieser Hinsicht vielleicht die wichtigeren. In den sog. Weizenkeimen, einem Abfallprodukt der Müllerei[2]), in Ahorn- und Platanenknospen[3]) ist reichlich Allantoin gefunden worden, so daß sich die Notwendigkeit ergibt, Mehl und Backwaren, aber auch Gemüse auf das Vorhandensein von Allantoin zu untersuchen, worüber ich später zu berichten gedenke.

Im folgenden teile ich zunächst die Untersuchung von zwei 24stündigen Harnportionen mit, die von zwei gesunden Personen unter sog. purinfreiem Regime geliefert worden sind.

Versuch 1.

Versuchsperson Verfasser.

Vom 4. XII. 1909 bis 6. XII. purinfreie Kost. Harn vom 5. XII. bis 6. XII. mit Spülung 3000 ccm. In fast der Gesamtmenge wurde

[1]) R. Wiener und A. Schittenhelm, l. c.

[2]) Richardson, B. B. 19, 1180.

[3]) Schulze und Barbieri, B. B. 14, 1602 und Zeitschr. f. phys. Chem. 11, 420.

nach Zusatz von 30 ccm konz. H_2SO_4 die zur völligen Ausfällung notwendige, in kleinen Voluminibus vorher mit 50%iger Lösung ausgetastete Menge fester Phosphorwolframsäure = 377 g gelöst. Nach dem völligen Absetzen des massenhaften Niederschlages wurde abgenutscht und in das Filtrat festes Barythydrat bis zur stark alkalischen Reaktion eingetragen, das abgenutschte Filtrat durch CO_2 und einer geringen Menge fester Soda und nochmalige Filtration von Barytüberschuß befreit. So wurde eine noch stark gefärbte Flüssigkeit erhalten, die im Volumen dem ursprünglichen, unverdünnten Harn entsprach. 2780 ccm wurden mit Salpetersäure angesäuert und mit Silbernitrat völlig ausgefällt; Filtrat und Waschwässer durch H_2S vom Silber befreit, der H_2S ausgeblasen und das Filtrat und die Waschwässer vom Ag_2S mit Soda neutralisiert, worauf so viel 20%ige Mercurinitratlösung zugesetzt wurde, bis in einer Probe des Filtrates wenige Tropfen einer sehr verdünnten frischen Allantoinlösung sofort eine weiße Fällung erzeugten. Die Mercurinitratfällung wurde nach dem Abfiltrieren mit H_2S in der Kälte zersetzt und Filtrat und Waschwässer vom HgS nach dem Neutralisieren mit Soda mit 0,5%igem Quecksilberacetat in 20%igem Natriumacetat gefällt. Diese Fällung wurde auf dem Filter völlig, d. h. bis zum Verschwinden der Reaktion mit Mercurinitrat im Filtrat, ausgewaschen, mit H_2S zerlegt und Filtrat und Waschwasser mit Phosphorwolframsäure in Substanz versetzt: Es entstand keine Fällung. Hierauf wurde mit Bleihydroxyd neutralisiert und Bleiessig bis zur völligen Ausfällung zugesetzt. Das von Blei durch H_2S befreite Filtrat wurde neutralisiert und wieder mit dem Allantoinreagens gefällt. Die gewaschene Fällung wurde zersetzt, zur Trockene verdampft und im kleinen Volumen mit 3%igem Quecksilbersulfat in verdünnter Schwefelsäure (1:8) gefällt, das vom Quecksilber befreite Filtrat nun zum letzten Male mit dem Allantoinreagens gefällt, die Fällung zersetzt, zur Trockene verdampft, in wenig heißem Wasser gelöst, filtriert und zur Krystallisation eingeengt. In der wenig gefärbten Lösung begann sofort Krystallisation. Die Krystalle wurden nach 12stündigem Stehen auf gehärtetem Filter gesammelt, mit Eiswasser tropfenweise vor der Pumpe gewaschen, getrocknet und gewogen. Erhalten wurden 0,0130 fast rein weiße Krystalle. Auf das Tagesharnvolumen berechnet beträgt das 0,014 Allantoin. Die 1,5 ccm betragende Mutterlauge und das Waschwasser wurde mit fester PWS versetzt. Es entstand noch ein bedeutender Niederschlag. Das Filtrat von diesem mit Bleihydroxyd und Bleiessig behandelt gab nach dem Entbleien und Neutralisieren erst nach längerem Stehen mit dem Allantoinreagens einen spärlichen Niederschlag, aus dem sich kein Allantoin mehr gewinnen ließ. Die auf kaum $^1/_2$ ccm eingeengte Zersetzungsflüssigkeit war noch etwas gefärbt und reagierte wieder mit fester PWS stark.

Versuch 2.

Versuchsperson Dr. E. St.

Vom 12. XII. bis 14. XII. 09 purinfreie Kost. Harn vom 13. zum 4. XII. 1000 ccm mit 10 ccm konz. H_2SO_4 und 450 g fester Phosphor-

wolframsäure versetzt. Am nächsten Tage genau wie in Versuch 1 das Filtrat mit Baryt behandelt und der Überschuß desselben entfernt. 790 Filtrat = 790 Harn wurden nach dem Ansäuern mit Salpetersäure mit der durch Titration ermittelten notwendigen Menge (27,3 g) Silbernitrat gefällt. Das Filtrat reagierte weder auf Kochsalz noch auf Silbernitratzusatz. Es wurde samt Waschwässern nach Neutralisieren wie in Versuch 1 mit Mercurinitrat partiell gefällt. Die Zersetzungsflüssigkeit dieses Niederschlages gab nach Eintragen von fester PWS keine Fällung. Nach dem Behandeln mit Bleihydroxyd und Bleiessig wie in Versuch 1 wurde das Filtrat entbleit, neutralisiert und mit dem Allantoinreagens gefällt. Die gewaschene und zersetzte Fällung lieferte eine noch schwach gefärbte Flüssigkeit, die sofort zur Krystallisation eingeengt wurde. Die Krystallisation begann erst nach einiger Zeit. Nach 12stündigem Stehen wurden die Krystalle wie in Versuch 1 gesammelt, gewaschen und gewogen. Erhalten wurden 0,0104 g fast weiße Krystalle. Für den Gesamtharn berechnet sich hieraus der Wert von 0,0133 Allantoin. Die Mutterlauge wurde wie in Versuch 1 nacheinander mit PWS und Blei behandelt. Das entbleite Filtrat reagierte noch sehr deutlich mit dem Allantoinreagens. Diese Fällung wurde nicht weiter verarbeitet.

Die in beiden Versuchen erhaltenen Krystalle wurden vereinigt. Sie verbrannten ohne Rückstand, ihre Lösung in wenig Wasser blieb auf Zusatz von fester PWS klar. Der F.P. lag bei raschem Erhitzen bei 235 bis 236°, reines Allantoin Merck schmolz am selben Thermometer ebenfalls bei 235 bis 236, das erhaltene Produkt, mit reinem Allantoin Merck gemischt, gleichfalls bei 235 bis 236°. Das dargestellte Allantoin war also rein.

Die Enthaltsamkeit von purinhaltigen animalischen Nahrungsmitteln hat mithin sicher keine Abnahme des Allantoingehaltes des Harns zur Folge. Die beobachteten Mengen sind eher größer als normal. Daß Schittenhelm und Wiener in analogen Fällen kein Allantoin im Harne gefunden haben, kann ich nur auf große Allantoinverluste bei der Verarbeitung zurückführen. Es ergibt sich also, daß das Allantoin des menschlichen Harnes nicht von präformiert mit den purinhaltigen, animalischen Nahrungsmitteln eingeführtem Allantoin abstammen kann. Ich verfüge aber auch über die Untersuchung des Harnes eines vollständig hungernden Menschen, die gleichfalls zur Darstellung reinen Allantoins geführt hat, und muß demnach annehmen, daß — selbst wenn die oben geforderte Untersuchung der vegetabilischen und auch anderer purinfreier Nahrungsmittel die Anwesenheit von Allantoin ergeben sollte — wenigstens ein

Teil des Allantoins des menschlichen Urins dem intermediären Stoffwechsel seinen Ursprung verdankt. Für die Entstehung dieses Allantoins ist, nach allem, was wir durch die Tierexperimente gelernt haben, bis auf weiteres wohl nur die Harnsäure verantwortlich zu machen. Übrigens ist die Frage, ob das Harnallantoin ausschließlich der Harnsäureoxydation entstammt, jüngst von Abderhalden und Einbeck[1]) am speziellen Falle des Histidins mit dem Resultate studiert worden, daß aus Histidin beim Hunde kein Allantoin entsteht.

Über die Abhängigkeit der Größe der Allantoinausscheidung von dem Umfang des Purinstoffwechsels versuchte ich durch die Untersuchung des Harnes eines an Leukämie leidenden Mannes Aufschluß zu erhalten.

Versuch 3.

Wagner, klin. Diagnose Leukämie (II. intern. Klinik, Hofrat v. Jaksch). Harn vom 4. I. bis 5. I. 1910 1300, sp. G. 1021, mit Spülung und 1% H_2SO_4 1540 ccm. Wie in Vers. 1 und 2 wurde der Harn mit fester PWS (300 g), das Filtrat mit festem Baryt behandelt und der überschüssige Baryt entfernt. In 1360 des Filtrates = 1360 Harn wurde durch 25,1 g Silbernitrat das Chlor unter Vermeidung jedes Silberüberschusses niedergeschlagen und Filtrat und Waschwässer wie früher nach Neutralisieren mit Mercurinitrat partiell gefällt. Die Zersetzungsflüssigkeit dieser Fällung 560 ccm reagierte nicht mit PWS. 555 ccm wurden mit Bleiessig zu 615 ccm versetzt, das Filtrat mit H_2S entbleit und 520 ccm des Filtrates von PbS nach dem Neutralisieren mit dem Allantoinreagens gefällt. Die weitere Verarbeitung geschah wie in Vers. 2. Erhalten wurden 0,0094 reines, krystallisiertes Allantoin, auf die Tagesmenge berechnen sich hieraus 0,013 g.

Die 24stündige Allantoinausscheidung hält sich in diesem Falle von Leukämie in normalen Grenzen. Ein Resultat, das mit dem von Schittenhelm und Wiener (l. c.) bei reichlicher Purinkörperzufuhr erhaltenen übereinstimmt. Ich glaube jedoch nicht, daß aus diesem Fehlen einer Abhängigkeit der Größe der Allantoinausscheidung vom Purinumsatz der Schluß gezogen werden dürfe, daß das Allantoin mit der Harnsäurezersetzung nichts zu tun habe. Der Mensch leistet eben schon der normalen endogenen Harnsäure gegenüber sein sehr niedrig liegendes Maximum der Zersetzung, so daß bei Mehrbildung von Harnsäure eine umfangreichere Zersetzung gar nicht erwartet werden

[1]) Stud. üb. d. Abbau usw. Zeitschr. f. phys. Chem. 62, 312, 1909.

kann. Wir sehen hier im Verhalten des Menschen wieder das genaue Widerspiel zum Verhalten der übrigen Säuger. Wie sich hier in der Harnsäureausfuhr der Purinumsatz nicht oder kaum äußert, tritt er beim Menschen in dem Umfang der Allantoinausscheidung nicht deutlich zutage. Übrigens ist hierbei noch zu berücksichtigen, daß Schwankungen der Allantoinausscheidung des Menschen um relativ bedeutende Beträge, in Anbetracht der Geringheit der Normalausscheidung sich innerhalb der analytischen Fehlergrenzen sehr wohl verbergen können, zumal die umständliche Methode vorläufig nur Minimalwerte zu ermitteln gestattet. Aus dem Ergebnis dieser Versuche ist in Anbetracht der Beständigkeit des Allantoins im Körper der Schluß zu ziehen, daß auch beim Menschen das Allantoin ein terminales Produkt des inneren Stoffwechsels ist, und damit ist die Bedeutung des Allantoingehalts des menschlichen Harns für die Schicksalsfrage der Harnsäure im menschlichen Körper gegeben.

Fasse ich das bisher Mitgeteilte zusammen, so gelange ich zu dem Ergebnis, daß alle von Schittenhelm und anderen erhobenen, im vorstehenden einzeln besprochenen Einwände als nicht stichhaltig abzulehnen sind, und muß nach wie vor an der, wie ich glaube, begründeten und unwiderlegten Anschauung festhalten: daß die intermediäre Harnsäurezersetzung im Menschen qualitativ ebenso verläuft wie in den übrigen Säugetieren, d. h. eine Oxydation zu Allantoin ist, aber quantitativ so zurücktritt, daß als Hauptprodukt des intermediären Purinstoffwechsels des Menschen die Harnsäure angesehen werden muß. Denn ich finde keine bisher bekannt gewordene Tatsache hiermit unvereinbar, sondern im Gegenteil die vorgetragene Ansicht als den logischen Schluß aus allen Beobachtungen, die beim Studium dieses Gegenstandes gemacht worden sind.

Im Anschluß hieran teile ich die Untersuchung der Harne von zwei Gichtkranken auf Allantoin mit. Mit Rücksicht auf das Interesse, das gerade solchen Fällen für die behandelte Frage zukommt, wollte ich die bei uns so seltene Gelegenheit nicht ungenützt vorbeigehen lassen.

Versuch 4.

Bankdirektor Ch., 72 Jahre alt. Chronische Gicht. Seit 1 Jahre anfallsfrei. Harn vom 31. I. bis 1. II. 1910 mit Spülung und 1%iger Schwefelsäure 2260 ccm mit fester PWS (350 g) und nachher mit festem Baryt usw. wie in Versuch 2 behandelt. 1910 ccm Filtrat = 1910 ccm Harn wurden nach Entfernung des Chlors durch 25,8 g Silbernitrat weiter quantitativ genau wie in Versuch 2 verarbeitet. Zum Schluß ging ein erheblicher Teil vor der letzten Fällung verloren. Erhalten wurden 0,006 reines Allantoin.

Versuch 5.

Masseur Jos. B. aus Karlsbad[1]), 62 Jahre alt. Seit 18 Jahren chronische Gicht. Letzter Anfall vom 4. I. bis 30. III. 1909. Harn vom 31. I. bis 1. II. 1910. Kostordnung: Kaffee mit Brot, ein Paar Würstchen, gekochtes Schweinefleisch mit Knödeln, Kaffee, Wurst mit Brot, 2 l Bier. Harnmenge mit Spülung und 1%iger Schwefelsäure 2070 ccm, wie in Versuch 2 mit 370 g fester PWS und nachher mit Baryt usw. behandelt. 1630 ccm Filtrat = 1630 ccm Harn nach dem Ausfällen des Chlors, wozu 24,9 g Silbernitrat nötig waren, genau wie in Versuch 2 quantitativ auf Allantoin verarbeitet. Erhalten wurden 0,009 reines Allantoin, auf das gesamte Tagesharnvolumen berechnet, bedeutet das eine Ausscheidung von 0,0114 Allantoin.

Die in beiden Fällen erhaltenen Krystalle wurden vereinigt. Sie verbrannten ohne Rückstand und schmolzen unter Zersetzung bei 229°, mit reinem Allantoin Merck gemischt am selben Thermometer bei 230 bis 231° (anderes Thermometer als in Versuch 1 u. 2.)

In diesen beiden Fällen von chronischer Gicht bewegt sich also die tägliche Allantoinausscheidung in normalen Grenzen.

II. Zur Methodik der Allantoinbestimmung.

Die von mir angegebene Methode der Allantoinbestimmung hat sich nicht nur mir, sondern auch den Nachuntersuchern als zuverlässig erwiesen, und ich darf wohl sagen, daß ein großer Teil des Fortschritts in unserer Kenntnis vom Harnsäurestoffwechsel der Säugetiere in erster Linie dieser Methode zu verdanken ist. Gleichwohl finde ich in einzelnen einschlägigen Publikationen Bemerkungen, die namentlich bei weniger Unterrichteten den Eindruck erwecken müssen, daß diese Methode an Genauigkeit noch zu wünschen übrig läßt. Ich sehe mich daher bei der Wichtigkeit dieses Gegenstandes, dem ich die

---

[1]) Den Fall verdanke ich dem Entgegenkommen des Herrn Fremdenhospitaldirektors Dr. Hermann in Karlsbad.

denkbar möglichste Sorgfalt und Kritik glaubte gewidmet zu haben, veranlaßt, mit einigen Worten auf das einzugehen, was meiner Meinung nach an der Methode das Wichtigste ist und was allemal vor Täuschung bzw. falschen Resultaten bewahren muß, was aber, wie ich glaube, nicht immer voll beachtet wurde. Hierdurch wurden dann Vorkommnisse veranlaßt, die zu den geäußerten Bedenken geführt haben. Schittenhelm sagt (Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 83, 1907): „Es scheint mir jedoch, als ob die Werte, die man erhält, ein klein wenig zu hoch liegen" und (S. 84): „. . . und ich nehme daher eine geringe Ungenauigkeit der Methode im Hundeharn an, so daß etwas zu hohe Werte erhalten werden. Die Fehlerquelle kann jedoch keine bedeutende sein und kommt daher praktisch für den Hundeharn kaum in Betracht"; und an anderer Stelle sagt Schittenhelm und Seisser (Zeitschr f. experim. Pathol. u. Ther. 7, Fußnote S. 124, 1909): „Alle unsere Schlüsse, die das Allantoin betreffen, setzen voraus, daß die Wiechowskische Allantoinbestimmung tatsächlich eine spezifische ist. Sie ist es auch in völlig befriedigender Weise für den Urin der Säugetiere, wie Kaninchen, Hund, Schwein usw., für Bestimmungen im menschlichen Urin ist sie jedoch, wie ja Wiechowski auch selbst angibt, als quantitative Bestimmung unbrauchbar." Ich muß sagen, ich kann diesen Bedenken durchaus nicht beistimmen. Habe ich doch hervorgehoben, daß das Allantoin als solches rein und krystallisiert zur Wägung gebracht wird und gerade darin den Fortschritt der Methode erblickt; nicht aber etwa vorgeschlagen, den N-Gehalt der Quecksilberacetatfällung ohne weiteres als Allantoin zu bestimmen. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 188, 1909 sagte ich: „Es ist für diesen Gegenstand nicht eindringlich genug zu fordern, daß nur bei tatsächlicher Darstellung reinen Allantoins der Beweis für dessen Vorhandensein als erbracht anzusehen ist, da es keine eindeutige Allantoinreaktion gibt und sowohl Silber- als Quecksilberfällung selbst in Flüssigkeiten, die anderweitig (insbesondere auch mit Phosphorwolframsäure) gar nicht mehr zu reagieren scheinen, auch bei sicherer Abwesenheit von Allantoin positiv ausfallen können." Wie man aber bei gewogenem, schmelzpunktreinem Allantoin im Zweifel sein kann, ob die Methode wirklich spezifisch ist oder ev. zu hohe Werte liefert,

ist mir unbegreiflich. Die Bedenken sind eben dadurch entstanden, daß mit den Allantoinniederschlägen einfach N-Bestimmungen vorgenommen wurden. Das ist aber ganz gegen meine Absichten. Ich selbst habe in Parallelproben neben der Wägung des krystallisierten Allantoins den N-Gehalt des entsprechenden Niederschlags nur zur Kontrolle bestimmt, um zu zeigen, daß in der Norm bei Tierharn die unausbleiblich mitgefällten (meist färbenden) Verunreinigungen so gering sind, daß sie, insbesondere auch gegenüber den großen Allantoinmengen, analytisch kaum in Betracht kommen. Im Menschenharn hat diese Kontrolle dann gezeigt, daß die Verunreinigungen gegenüber den sehr geringen Allantoinmengen überwiegen, wodurch um so mehr die bloße N-Bestimmung der Quecksilberfällung unbrauchbar und andererseits die Zwischenschaltung reinigender Prozeduren notwendig wurde, um die Krystallisation zu ermöglichen. Ferner bediente sich Schittenhelm in dem Versuch, der zu der erstzitierten Bemerkung Veranlassung gegeben hat, zur Reinigung des aus Hundeharn isolierten Allantoins der Tierkohle, wobei er dann weniger Allantoin zur Wägung brachte, als aus dem N-Gehalt des Quecksilberniederschlages einer Parallelprobe berechnet war. Dieser Befund ist trotz der angeführten reichlichen Waschung mit heißem Wasser wahrscheinlich auf die Verwendung der Tierkohle zu beziehen. Ich habe ausdrücklich darauf hingewiesen,[1]) daß dieses sonst ausgezeichnete Reinigungsmittel für das quantitative Arbeiten mit Allantoin unbrauchbar ist. Die k-Adsorptionskonstante des Allantoins für Tierkohle ist so groß, daß schon durch mäßigen Kohlezusatz die Adsorption praktisch quantitativ erfolgen kann. Namentlich in halbwegs konzentrierten Lösungen müssen die Verluste ganz enorme sein. Ich habe mich jüngst wieder davon überzeugt. Selbst der Zusatz von Eisessig, wie ihn Michaelis und Rona zur Verdrängung des Rohrzuckers aus der Adsorption gegen Tierkohle wirksam gefunden und anempfohlen haben, ist nicht imstande, die Allantoinadsorption durch Tierkohle aufzuheben; offenbar ist die Adsorbierbarkeit des Allantoins höher als die der Essigsäure. Der Versuch hatte folgendes Ergebnis:

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 128, 1907.

Trockenrückstand von je 5 ccm frischer, mit Eisessig stark versetzter Allantoinlösung

a) vorher mit Tierkohle behandelt 0,0340,
b) ohne Tierkohle 0,0493,

das bedeutet einen Verlust von 31 %, der sich, wie die Erfahrung lehrt, auch durch Auswaschen nicht völlig hereinbringen läßt. Vielleicht ist das Aceton, das eine viel höhere[1]) k-Adsorptionskonstante für Tierkohle als Eisessig hat, für diesen Zweck zu gebrauchen, jedenfalls ist es aber ganz unstatthaft, bei quantitativen Bestimmungen das Allantoin ohne weiteres zur Reinigung mit Tierkohle zu behandeln.

In einem anderen Falle fand Abderhalden mit H. Einbeck (Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 322, 1909) nach Histidinfütterung im Hundeharn eine erhebliche Differenz zwischen dem N-Gehalte der Quecksilberacetatfällung und den (nur sehr geringen) Allantoinmengen, die aus dem Niederschlage dargestellt werden konnten, und schließt, daß im vorliegenden Falle die Methode „kein einwandfreies Resultat" lieferte, erst die Kombination mit der „neuen Wiechowskischen Methode" (vorläufige Entfernung des Ammoniaks mit Magnesia und Alkohol) führte zum Ziele. In diesem Falle war jedenfalls das reichlich vorhandene, durch die Phosphorwolframsäure wahrscheinlich nicht völlig entfernte Ammoniak schuld an dem schlechten Resultate der ersten Bestimmung. Hier hätte die Prüfung des Filtrates von der Quecksilberfällung mit Allantoinlösung — wie ich es schon in der ersten Mitteilung der Methode[2]) und später immer wieder empfohlen habe — zur Kenntnis gebracht, daß noch Substanzen zugegen waren, die die Fällung stören, und somit die geforderten Vorbedingungen der Fällung nicht erfüllt waren. Ob in diesem speziellen Falle aber neben dem Allantoin mehr Verunreinigungen mit gefällt waren als in der Norm, wäre gleichgültig gewesen, wenn nur das Allantoin völlig niedergeschlagen war. Denn die Verunreinigungen mußten nach dem Krystallisieren des Allantoins mit der Mutterlauge entfernt werden. Nur die Außerachtlassung der Prüfung auf Vollständig-

[1]) K für Essigsäure 2,606 (H. Freundlich); K für Aceton 5,212 (L. Michaelis und Rona) nach: L. Michaelis, Dynamik der Oberflächen. Dresden 1909, Th. Steinkopff.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 130, 1907.

keit der Fällung und die bereits hervorgehobene Unzweckmäßigkeit, den Niederschlag auf N zu verarbeiten, anstatt das krystallisierte Allantoin zu wägen, hat hier zu Anständen geführt. Ich möchte hier noch besonders betonen, daß der Fehler, den die Entfernung der Mutterlauge bedeutet, kaum für die physiologische Bewertung der Resultate in Betracht kommt, da er bei den gewöhnlich geringen Mengen Mutterlauge (ca. 0,5 ccm) kaum 1 mg beträgt. Jedenfalls ist es besser, dieses geringe Defizit, das sich übrigens durch Analyse der Mutterlauge noch herabdrücken läßt, in Kauf zu nehmen, als bei summarischer N-Bestimmung im Niederschlage Gefahr zu laufen, dort Allantoin zu vermuten, wo keines vorhanden ist. Es gelingt ja auch immer in dieser Weise, selbst so geringe Mengen Allantoin, wie sie im Menschenharn vorkommen, rein darzustellen, so daß man niemals befürchten muß, dabei irgend in Betracht kommende Allantoinmengen zu übersehen. Ich kann nur immer wieder darauf hinweisen, daß der methodische Fortschritt eben darin liegt, daß das Allantoin als solches dargestellt und gewogen wird; denn, wie bereits mehrfach betont, eine spezifische Fällungsreaktion des Allantoins ist bisher nicht bekannt. Im übrigen läßt die Methode dem Arbeiter völlige Freiheit, sich an die jeweiligen Bedingungen oder Wünsche weitgehend anzupassen. Nur die Vorbedingungen der Quecksilberacetatfällung müssen streng eingehalten und ihre Erfüllung durch Prüfung des Filtrats mit verdünnter Allantoinlösung stets kontrolliert werden. Neben Freiheit der zu fällenden Flüssigkeit von allen mit PWS und Bleiessig fällbaren Substanzen, von Chlorwasserstoff-, Phosphorsäure und Ammoniak gehört zu diesen Vorbedingungen auch mäßige Harnstoffkonzentration und ein nur kleines Volumen. Ich habe bereits[1]) darauf aufmerksam gemacht, daß das Allantoinreagens in sehr stark verdünnten Allantoinlösungen [weniger als 1 mg in 100 ccm[2])] nicht mehr wirksam ist, und auf den Fehler hingewiesen, der infolgedessen bei Fällung großer Flüssigkeitsvolumina entstehen kann. Ich erwähne das hier noch besonders, weil Schittenhelm[3]) bemerkt, er habe die Be-

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 192, 1909.

[2]) Ebenda und Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 123 und 125 (Tab.), 1907.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 84, 1909.

obachtung gemacht, „daß bei Anwendung der Quecksilberfällung in großen Flüssigkeitsmengen . . . schlechte Resultate erzielt werden". Sind große Volumina vorhanden, so ist die (partielle) Fällung mit Mercurinitrat, die auch in höchster Verdünnung quantitativ ist, unter kontrollierter Erfüllung der genannten Vorbedingungen, dem Einengen auf dem Wasserbade vorzuziehen.[1]) Nach Zersetzung dieser Fällung in der Kälte (die Fällung enthält auch nach dem Auswaschen Salpetersäure!) erhält man dann stets ein zur Allantoinfällung mit Quecksilberacetat genügend kleines Volumen. Unter dem Gesichtspunkte dieser Anpassungsfähigkeit der Methode an alle möglichen besonderen Bedingungen kann ich auch der oben zitierten Anmerkung Schittenhelms nicht beipflichten, daß die Methode (gemeint ist der für Tierharn beschriebene Gang), wie ich selbst angebe, für Menschenharn unbrauchbar sei. Ich wies im Gegenteil darauf hin, daß zugesetztes Allantoin nach dieser Methode aus Menschenharn vollständig wiederzugewinnen sei.[2]) Daß aus normalem Menschenharn auf diese Weise keines gewonnen werden konnte, ergab den Schluß, daß davon nur weniger als etwa 20 mg in der Tagesmenge enthalten sein konnten. Um auch diese geringen Mengen zu gewinnen, habe ich dann den ursprünglichen Gang nur in der Richtung an die besonderen Verhältnisse, d. i. die enorme Verdünnung des Allantoins im Menschenharn, angepaßt, daß die Fällung in kleinem Volumen vorgenommen werden konnte, trotzdem große Harnmengen zur Verarbeitung gelangten. So gelang dann auch die Allantoindarstellung aus normalem Menschenharn. Aber dieser Gang, der auch von Schittenhelm und Wiener (l. c.) dann mit Erfolg benutzt wurde, stellt ebensowenig eine neue Methode dar, die zur ursprünglichen in Gegensatz zu setzen wäre, wie das von Abderhalden und Einbeck (l. c.) als „neue Wiechowskische Methode" bezeichnete Verfahren eine solche darstellt. Diese bestand lediglich darin, daß ich, um Phosphor-

[1]) Die Fällung kann beliebig oft wiederholt werden, solange man sulfatfreie Flüssigkeiten vor sich hat (in schwefelsäurehaltigen Flüssigkeiten fällt das gelbe „Turpetum minerale" aus) und Reinigungsprozeduren abwechselnd eingeschaltet werden.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 120 (Fußnote) 1907; Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 188, 1909.

wolframsäure und Silbernitrat zu sparen, mit Mercuronitrat[1]) fällte, zur Entfernung des Ammoniaks aber dann gezwungen war, einen besonderen Akt (Einengen, Versetzen mit viel Magnesia und Alkohol und Verdampfen des Filtrats auf dem Wasserbade) vorzuschalten, ohne aber das Prinzip der Methode zu ändern. Ebensowenig darf man auch den in den vorstehenden Versuchen benutzten Gang wieder als eine neue Modifikation der Methode bezeichnen, dessen etwa neue Details sich nur auf die möglichst einfache und rasche Herstellung der Vorbedingungen für die Allantoinfällung beziehen. In dieser Beziehung hat man, wie gesagt, völlige Freiheit, ohne daß derartige individuelle Abweichungen von den ursprünglichen Angaben als neue Methoden zu bezeichnen wären. Die Reinigung des aus dem Quecksilberniederschlag durch Zersetzung mit Schwefelwasserstoff freigemachten Allantoins von den allemal mit gefällten Verunreinigungen, die namentlich im Menschenharn relativ und, da man hier große Harnquantitäten zu verarbeiten hat, auch absolut reichlich sind, kann ebenfalls in der verschiedensten Weise erfolgen, und die Methode ist dabei durchaus nicht auf das von mir Angegebene beschränkt. Ist viel Allantoin da, so krystallisiert es übrigens (auch aus Menschenharn) entweder sofort oder nach einigem Stehen aus der stark eingeengten Lösung spontan aus, und die Schmieren werden mit der Mutterlauge entfernt, die man dann erst einer Reinigung unterziehen kann. Als Reinigungsmittel kommen (am besten feste) Phosphorwolframsäure, 3%iges Quecksilbersulfat in

[1]) Zur Fällung mit Mercuronitrat möchte ich hier beiläufig folgendes bemerken: Dieses Reagens fällt Allantoinlösungen nicht und hat sich für die Vorbereitung des Menschenharns zur Fällung des Allantoins mit Mercurisalzen ganz gut bewährt. Man kann sich jedoch leicht überzeugen, daß bei tropfenweisem Zusatz von 20%iger Mercuronitratlösung zu einer Allantoinlösung sofort deutliche Reduktion der Quecksilberlösung eintritt. Insofern hierbei eine teilweise Oxydation von Allantoin mit Wahrscheinlichkeit angenommen werden muß, erscheint die Anwendung dieses Reagens nicht ganz unbedenklich, und ich vermeide diese Fällung daher nach Tunlichkeit, wenn auch solche Besorgnis bei der Fällung des Harns vielleicht übertrieben sein mag, da hierbei nur ein geringer Überschuß an Reagens zur Anwendung kommt. (Es sei hier noch daran erinnert, daß auch die Mercurinitratfällung des Allantoins sich unter Reduktion zu metallischem Quecksilber allmählich zersetzt, allerdings nur bei Anwesenheit von überschüssigem freiem Alkali.)

Schwefelsäure 1:8[1]), auch Bleiessig und Ammoniak (nach dem Entbleien des Filtrats verflüchtigen sich die Spuren von Ammoniumacetat bzw. Schwefelammonium beim Verdampfen auf dem Wasserbade), Alkohol (der Allantoin nicht fällt), auch kolloides Eisenhydroxyd (stark verdünnt, es wird durch Allantoinlösung nicht ausgeflockt), nicht aber Tierkohle in Betracht.

III. Über die Zersetzlichkeit des Allantoins.

Im Anschluß an diese methodischen Bemerkungen möchte ich die Aufmerksamkeit noch auf einen bisher wenig oder gar nicht beachteten Punkt lenken, das ist die Zersetzlichkeit des Allantoins. Nach allem, was wir bisher wissen, findet eine Zersetzung von Allantoin im lebenden Organismus jenseits der Darmwand in irgend in Betracht kommendem Umfange nicht statt. Extra corpus erweist sich aber das Allantoin in Lösung durchaus nicht als vollständig stabil, im Gegenteil, es ist verhältnismäßig leicht zersetzlich. Die erste Beobachtung über spontane Zersetzung von Allantoin wurde von Salkowski[2]) mitgeteilt, der den enormen Oxalsäuregehalt eines alten, antiseptisch verwahrten Kuhharnes durch Allantoinzersetzung entstanden vermutete, und so zur Entdeckung des Allantoins im Kuhharn geführt wurde. Auch ich habe am (nativ alkalischen) Pferdeharn die Beobachtung gemacht, daß der reichliche Allantoingehalt beim Stehen über Chloroform im Laboratorium innerhalb weniger Tage sehr merklich abnahm. Aber auch in reiner wässeriger Lösung ist das Allantoin nicht beständig. Eine 0,1 %ige Allantoinlösung fand ich nach wochenlangem Stehen in verschlossener Flasche, bei Abwesenheit jeder sichtbaren Schimmel- oder Pilzbildung, frei von Allantoin. Weitaus rascher noch geht diese Zersetzung reiner Lösungen beim Kochen vor sich, wie der folgende Versuch zeigt:

---

[1]) Die Warnung Abderhaldens und Einbecks (Zeitschr. f. phys. Chem. 62, 322, 1909), daß diese Fällung, bei Gefahr der Mitfällung von Allantoin, einen Überschuß an Schwefelsäure erfordere, trifft für das wie angegeben hergestellte Reagens nicht zu, das reine Allantoinlösungen nicht fällt. Daß bei Anwesenheit von weniger Säure Allantoin z. T. gefällt werden kann, habe ich bereits [Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60, 195 (Fußnote), 1909] hervorgehoben.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. 42, 213, 1904.

0,0584 Allantoin wurden in 50 ccm dest. Wasser gelöst und unter Rückflußkühlung gekocht. Nach 1 Stunde Kochzeit war noch keine Zersetzung nachweisbar. Die Flüssigkeit reagierte weder mit (fester) Phosphorwolframsäure noch mit Bleiessig. — Nach weiteren 5 Stunden Kochen zeigte die Flüssigkeit aber folgende Reaktionen: mit (fester) Phosphorwolframsäure Trübung, die sich langsam zu einem deutlichen Niederschlag entwickelt, mit Bleiessig sofort deutliche staubige Fällung, mit Calciumchlorid, Ammoniak und nachher viel Essigsäure zunächst keine Reaktion nach dem Erwärmen und Reiben mit dem Glasstabe geringe Trübung. Vorbehaltlich einer näheren Untersuchung kann man in Anbetracht der Beobachtung von Salkowski und der bekannten Zersetzung des Allantoins beim Kochen mit Lauge (Entstehung von Ammoniak und Oxalsäure) aus diesen Reaktionen schließen, daß auch die Produkte der beschriebenen Zersetzung wahrscheinlich über Glyoxylsäure (Bleifällung) und Harnstoff, Oxalsäure und Ammoniak sein werden.

Diese Beobachtungen zeigen eine verhältnismäßig leichte Zersetzlichkeit des Allantoins an. Während aber die Zersetzlichkeit in der Kälte bei reinen Lösungen nur sehr langsam vor sich geht, scheint sie in alkalischen Medien wesentlich rascher zu verlaufen. Hierdurch können in mehrfacher Hinsicht fehlerhafte Schlüsse veranlaßt werden. Zunächst werden wir hier an das Verhalten der Hippursäure erinnert, die bei alkalischer Reaktion des Harns schon in der Blase einer partiellen Hydrolyse anheimfällt, und müssen uns die Frage vorlegen, ob unter denselben Bedingungen das Allantoin zum Teil nicht ebenfalls eine Zerlegung erfahren kann, wodurch dann die gemessenen Mengen unter die tatsächlich ausgeschiedenen herabgedrückt würden. Solche Bedenken werden namentlich dann erhoben werden können, wenn z. B. der Harn von Kaninchen bei Rübenfutter, das ihn stark alkalisch macht, durch mehrere Tage gesammelt wird und so längere Zeit das Allantoin alkalischer Reaktion ausgesetzt ist. Ferner können diese Beobachtungen zur Beurteilung jener Versuche herangezogen werden, in denen nach per os Darreichung von Allantoin nur ein Teil, dieses, wie man sieht, nicht unempfindlichen Stoffes im Harne wieder gefunden wurde. Es erscheint durchaus wahrscheinlich, daß im alkalischen Darminhalt auch ohne

Dazwischentreten von Bakterien usw. eine weitgehende Allantoinzersetzung stattfindet. Andererseits geben diese Überlegungen zur Kritik der Oxalsäurebefunde Veranlassung, indem sie eine passive Entstehung von Oxalsäure in den Bereich der Möglichkeit rücken. — Es wird gelegentlich immer wieder behauptet, daß Harnsäure im Organismus zu Oxalsäure abgebaut werde. Allen hierfür herangezogenen Versuchen ist nun gemeinsam, daß immer nur sehr geringe Oxalsäureausschläge gefunden wurden, obgleich bei der Harnsäurezersetzung 53,57% Oxalsäure entstehen müssen.[1]) Wie weit man in dieser Beziehung gelegentlich zu gehen geneigt ist, zeigt eine Mitteilung der letzten Zeit von Zdzislaus Tomaszewski[2]): Gearbeitet wurde mit Rinderorganen, und in Zersetzungsversuchen mit Harnsäure 0,9 bis 6 mg Oxalsäure mehr gefunden als in den Kontrollen ohne Harnsäure, bei einem methodischen Fehler von durchschnittlich 20%. Aus diesen minimalen und in Anbetracht der Methodik ganz unsicheren Ausschlägen wird der Schluß gezogen, daß ein Teil der Harnsäure im Körper unter Oxalsäurebildung zerstört wird. Davon aber, daß Harnsäure bis zu 95% von Rinderniere zu Allantoin oxydiert wird[3]) und daß andererseits die Rindermilz, welche die höchsten Oxalsäurezahlen in diesen Versuchen lieferte, nach Schittenhelm überhaupt zur Harnsäurezerstörung nicht befähigt ist, wird keine Notiz genommen. Abgesehen aber auch hiervon, wird man nach dem Mitgeteilten für so kleine Oxalsäuremengen eine passive Entstehung wohl in den Kalkul zu ziehen haben. Ebenso gilt von jenen Versuchen, in denen nach Fütterung von Allantoin eine Vermehrung der Oxalsäureausscheidung im Harne beobachtet wurde, daß man mit einer passiven Zersetzung des Allantoins im Darme zu rechnen hat. Ja, man wird sich hier auch die bereits gestellte Frage vorerst beantworten müssen, ob in allantoinhaltigen Flüssigkeiten, wie sie der Säugetierharn darstellt, nicht schon

[1]) Auf die infolge dieses Mißverhältnisses gemachte, völlig unbewiesene, ja weitgehend widerlegte Annahme, daß die Oxalsäure ihrerseits im Organismus verbrennlich sei, soll hier nicht näher eingegangen werden.

[2]) Experim. Beitr. z. Oxalsäurestoffw. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 215, 1909.

[3]) Wiechowski, Die Produkte der ferm. Harnsäurezers. usw. Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 295, 1907.

gelegentlich die alkalische Reaktion oder gewisse methodische Prozeduren zu passiver Entstehung von Oxalsäure Veranlassung geben können.

Diese Bedenken werden noch verstärkt, wenn man erwägt, daß außer dem Allantoin noch andere Verbindungen unter Oxalsäurebildung leicht passiv zersetzlich sind. Mit Rücksicht auf den behandelten Gegenstand ist die Harnsäure der wichtigste dieser Stoffe. Auch sie scheint selbst in reiner wässeriger Lösung nicht beständig[1]) zu sein und ist gegen Alkalien sogar sehr empfindlich. Durch 0,2% Soda wurden z. B. in 4 Tagen 0,10 Harnsäure zersetzt.[2]) Beim Schütteln mit starker Lauge entsteht schon nach kurzer Zeit in der Kälte reichlich Oxalsäure. Die Leichtigkeit einer solchen Zersetzung hat auch bereits zu unliebsamen Täuschungen Veranlassung gegeben. Ferner kommen für eine passive Oxalsäurebildung, wenn ich die gleich mitzuteilenden Beobachtungen über die Glyoxylsäurereaktion als Wahrscheinlichkeitsbeweis heranziehen darf, auch weniger oder gar nicht oxydierte Purine sowie namentlich das Kreatin und Kreatinin, vielleicht auch das Glykokoll in Betracht, so daß für eine derartige Entstehung kleiner Oxalsäuremengen, sei es im Darm, sei es in überlebenden Organen, ja selbst beim Stehen und bei der Verarbeitung jedes Harnes reichlich Gelegenheit gegeben ist. Jedenfalls ist es geboten, von diesem Gesichtspunkte aus das Gebiet der Oxalsäurebildung zu kontrollieren, ehe man eine vitale Bildung, namentlich aus Purinen bzw. Allantoin, als erwiesen annehmen darf; insbesondere auch deshalb, weil die beobachteten Oxalsäureausschläge nur sehr geringe sind.

Die leichte Zersetzlichkeit der genannten Stoffe zeigt sich auch in ihrem Verhalten bei Anstellung der Glyoxylsäurereaktion. Bei der Prüfung der Zersetzlichkeit des Allantoins in wässeriger Lösung habe ich die Beobachtung gemacht, daß auch ganz frische Allantoinlösungen in sehr ausgesprochener Weise die für Glyoxylsäure charakteristische Violettfärbung

---

[1]) Torg. Gigli, Chem. Journ. 25, 741 (Jahresber. f. Tierch. 30) beobachtete eine spontane Umwandlung von Harnsäure in Harnstoff in einer 1 Jahr alten Lösung.

[2]) Wiechowski und Wiener, Eigenschaften u. Darstellung usw. Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 251, 1907.

zeigen, wenn man sie mit etwas Pepton versetzt und mit konz. Schwefelsäure unterschichtet. Die Reaktion ist ungemein empfindlich und kann somit gelegentlich als unterstützende Reaktion auf Allantoin benutzt werden. Bemerkenswerterweise tritt die Reaktion nicht allsogleich, sondern erst nach einigem Zuwarten ein und ist weitaus empfindlicher, wenn man durchschüttelt, statt nur zu unterschichten. Stärkere Allantoinlösungen geben aber auch beim Schichten den violetten Ring. Bei sehr wenig Allantoin ist der Peptonzusatz sehr vorsichtig zu bemessen und auch die Menge der zugesetzten Schwefelsäure für die Deutlichkeit der Reaktion von Bedeutung. Die Glyoxylsäurereaktion ist aber, wie weitere Versuche gezeigt haben, nichts weniger als eindeutig. Sie wird auch von Purinen gegeben (untersucht wurden Harnsäure, Coffein und 1,3,7 Trimethylharnsäure), ferner von Kreatin, Kreatinin und Glykokoll. Recht bemerkenswert ist es, daß die Intensität der Reaktion von Substanz zu Substanz sehr wechselt. Am markantesten ist sie mit Harnsäure zu erzielen und gibt da an Intensität des Farbentones der mit reiner Glyoxylsäure angestellten nichts nach. Fast ebenso deutlich fällt die Reaktion mit Allantoin aus, dann folgt von den geprüften Stoffen das Kreatin; Hydroxycoffein und Kreatinin geben sie schon schwächer, Coffein noch schwächer und am wenigsten markant das Glykokoll. Doch ist hierbei darauf hinzuweisen, daß die Intensität und Reinheit der Färbung sehr von der Menge der Zusätze (Pepton und Schwefelsäure) im Verhältnis zur Konzentration bzw. Menge der zu prüfenden Substanz abhängt.[1])

Dakin hat mitgeteilt, daß durch Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd aus Kreatin, Kreatinin und Glykokoll leicht Glyoxylsäure entsteht. Den mitgeteilten Beobachtungen zufolge genügt aber auch offenbar die bei der Anstellung der Reaktion vor sich gehende Säurehydrolyse (die Flüssigkeit erwärmt sich ja stark) zur Abspaltung von Glyoxylsäure. — Die Feststellung, daß die Adamkiewiczsche Reaktion ebenso

[1]) Auch die Verstärkung der Glyoxylsäurereaktion durch geringe Mengen Eisenchlorid ist bei den genannten Substanzen deutlich. Daß diese Verstärkung zwecks spektroskopischer Prüfung mit Vorteil zu verwenden ist, hat jüngst O. Adler gezeigt. (Prager med. Wochenschr. 1910, S. 153.)

prompt wie von Glyoxylsäure, auch insbesondere von Harnsäure, Allantoin[1]) und Kreatin gegeben wird, ist in doppelter Hinsicht von Wichtigkeit. Hierdurch werden zunächst alle Glyoxylsäurebefunde, die sich nur auf die Farbenreaktion stützen, soweit es sich um purin- oder um allantoinhaltige Flüssigkeiten handelt, hinfällig; was namentlich von jenen Versuchen gilt, welche die Glyoxylsäure als vitales Spaltungsprodukt von Harnsäure oder Allantoin erweisen sollten. Dann wird man Glyoxylsäure nur dann als vorhanden annehmen dürfen, wenn sie unter Ausschluß der Möglichkeit einer passiven Entstehung, als solche etwa in der von Dakin besonders empfohlenen Verbindung mit Amidoguanidin dargestellt worden ist. Ferner zeigen diese Versuche, wie leicht die angeführten Stoffe unter Umständen passiv zerfallen können und hierdurch die vitale Bildung von Glyoxylsäure und der bereitwillig aus dieser entstehenden Oxalsäure vorgetäuscht werden kann.

Bei den vorstehend mitgeteilten Untersuchungen machte ich die Beobachtung, daß sich beim Unterschichten von normalem Menschenharn mit konz. Schwefelsäure ein violetter Ring bildet. Beim Schütteln verschwindet dieser und macht einer braunen Färbung Platz. Jeder von mir untersuchte Menschenharn zeigte dieses Verhalten. Bei den wenigen darauf hin untersuchten Tierharnen zeigte sich kein so ausgeprägtes Verhalten. Es ist nicht unmöglich, daß wir es hier mit einer der eben besprochenen Reaktion analogen zu tun haben, indem im Menschenharn neben Harnsäure, Kreatinin usw. vielleicht noch ein Stoff anwesend ist, der die Rolle des Peptons spielt. (Spuren von Eiweiß, Tryptophan oder einem anderen Indolabkömmling.) Gefunden habe ich noch, daß die Reaktion auch bei völliger Abwesenheit von Indikanreaktion in gleicher Weise zu beobachten ist und daß bei Verarbeitung des Harns nach dem in den voranstehenden Versuchen befolgten Gange auf Allantoin die Reaktion allemal in den Fraktionen positiv ausfällt, in denen das Allantoin vorhanden ist. Es kann also die Harnsäure wenigstens nicht die einzige Ursache für diese Reaktion sein. Nach Fällung des Harnes mit PWS, Barythydrat und Silbernitrat ist sie noch ungeschwächt vorhanden. Das Filtrat von der partiellen Mercurinitratfällung reagiert dagegen nicht mehr beim Unterschichten mit konz. Schwefelsäure (auch nicht nach Peptonzusatz). Die aus der zersetzten Fällung durch Quecksilberacetat abgeschiedene Allantoinfraktion gibt ihrerseits nach dem Zersetzen durch H_2S mit konz. Schwefelsäure allein keine Reaktion, wohl aber sehr stark nach Zusatz von Pepton. — Untersucht man aber das Filtrat der Allantoinfällung, so findet man auch hier die Schwefelsäurereaktion negativ,

[1]) Man wird hierbei unwillkürlich an die deutliche Reduktion von Metallsalzlösungen durch Harnsäure und Allantoin erinnert.

die Glyoxylsäurereaktion aber positiv, wie wohl auf Zusatz von Allantoin ein Niederschlag entsteht, zum Beweise, daß die Fällung vollständig erfolgt ist, keine hemmenden Substanzen zugegen sind.

Dieses Verhalten zeigen auch reine Allantoinlösungen, und es ist demnach auf die nicht absolut vollständige Fällbarkeit des Allantoins durch mein Reagens zurückzuführen. Die Empfindlichkeit desselben hat, wie mehrfach erwähnt, bei etwa 0,001 % Gehalt ihre Grenze. Man ersieht hieraus, daß die Glyoxylsäurereaktion noch von geringsten Allantoinspuren gegeben wird. Da nach Fällung von Allantoin mit verd. Mercurinitratlösung das Filtrat die Glyoxylsäurereaktion nicht gibt, so schließe ich, daß die Nitratfällung absolut quantitativ verläuft und habe deshalb die partielle Fällung mit Mercurinitrat oben als Ersatz für das Einengen größerer Volumina auf dem Wasserbade empfohlen, die so oft wiederholt werden soll, bis ein möglichst kleines Volumen zur Quecksilberacetatfällung erreicht ist.

Chemische Versuche mit Calciumcyanamid und mit einigen daraus hergestellten Verbindungen.

Von

Fr. Reis.

(Aus dem Agrikultur-chemischen Institut der Universität Königsberg.)

(Eingegangen am 2. März 1910.)

I. Einleitung.

Seitdem durch die Herstellung des Calciumcyanamids durch Frank und Caro der Landwirtschaft ein neues stickstoffhaltiges Düngemittel gegeben worden ist, haben sich Praxis wie Wissenschaft eingehend hiermit beschäftigt. Es existiert heute schon eine ausgedehnte Literatur über den „Kalkstickstoff", wie man das rohe, mit Kalk und Kohle gemengte Calciumcyanamid in Deutschland nennt, ohne aber daß in allen Fragen zwischen den einzelnen Forschern Übereinstimmung herrschen würde. Besonders über die Art der Umwandlung zu assimilierbarer Pflanzennahrung ist man sich nicht einig. In dieser Arbeit soll zu diesen letzteren Untersuchungen ein Beitrag geliefert werden, indem zuerst das chemische Verhalten des Kalkstickstoffs und des Cyanamids, seines wirksamen Bestandteils, unter verschiedenen Bedingungen, und dann die physiologische Wirkung gegen Bakterien, Fadenpilze, keimende Samen und wachsende Pflanzen untersucht wird, woraus sich dann Schlüsse über das Verhalten im Ackerboden werden ziehen lassen. Zunächst gebe ich eine gedrängte Übersicht über die wichtigsten Literaturangaben.

A. Chemisches Verhalten.

Durch die Arbeiten von Drechsel (1)[1]) und Meyer (2) wurde das Cyanamid chemisch eingehend untersucht. Das wichtigste Ergebnis dieser Untersuchungen war, daß das Cyanamid dem Harnstoff sehr nahe steht, und bei Behandlung mit Wasser bei höherer Temperatur und unter Druck in Harnstoff und weiter in Ammoncarbonat übergeht:

[1]) Literaturverzeichnis s. S. 492.

$$N : CNH_2 + H_2O = C{:}O{<}^{NH_2}_{NH_2}$$

$$C{:}O{<}^{NH_2}_{NH_2} + 3\,H_2O = CO_3(NH_4)_2.$$

Weiter wurde gezeigt, daß das Cyanamid bei höherer Temperatur (über 40°), aber auch schon bei längerem Stehen, besonders in wässeriger Lösung, sich zu Dicyandiamid polymerisiert:

$$2\,N{:}C.NH_2 = C{<}^{NH_2}_{NH}{=}NH$$

und dieses unter der Einwirkung von Säuren

$$C : N$$

leicht zu dem Dicyandiamidin

$$+ H_2O = C{<}^{NH_2}_{NH}{=}NH$$

verseift, durch NH_3 unter Druck

$$C{<}^{NH}_{NH_2}{=}O$$

in Diguanid übergeführt werde:

$$C{<}^{NH_2}_{NH}{=}NH$$

$$C{<}^{NH_2}_{NH_2}{=}NH$$

(Diese Körper wurden alle zu unsern vergleichenden Versuchen neben dem Cyanamid verwendet.)

Das Calciumcyanamid, der wertgebende Bestandteil des Kalkstickstoffs, geht unter dem Einflusse des Wassers (nach Drechsel und Meyer) in das einbasische Kalksalz

$$2\,Ca{:}N.C : N + H_2O = (HNC : N)_2Ca + Ca(OH)_2$$

über, und dieses unter weiterer Abspaltung von Kalk in freies Cyanamid:

$$(HN.C : N)_2Ca + H_2O = H_2N.C : N + Ca(OH)_2.$$

Durch Kohlensäure entsteht aus dem Calciumcyanamid cyanamidokohlensaurer Kalk:

$$C{<}^{OH}_{OH}{=}O + H_2N.C : N = H_2O + C{<}^{OH}_{OH}{=}N.C : N$$

(Cyanamidokohlensäure),

eine Verbindung, die äußerst leicht, z. B. schon bei schwachem Erwärmen, wieder in ihre beiden Bestandteile zerfällt.

Diese Verbindungen könnten alle, theoretisch betrachtet, bei der Verwendung des Kalkstickstoffs als Düngemittel im Boden entstehen: durch den Einfluß der Sonnenbestrahlung Dicyandiamid, durch die Bodenabsorption des Kalkes freies

Cyanamid, durch die Kohlensäure die Cyanamidokohlensäure und durch die Humussäuren vielleicht allmählich Dicyandiamidin.

Außer diesen Verbindungen werden aus dem Kalkstickstoff nach Seelhorst und Müther (3) geringe Mengen von Acetylen, Phosphorwasserstoff und Arsenwasserstoff frei, die aber, ihrer kleinen Menge wegen, für das Pflanzenwachstum unschädlich sind.

B. Physiologisches Verhalten.

Über die physiologische Wirkung des Cyanamids liegen auch Untersuchungen vor. Behrens (4) stellte zuerst Versuche an, bei denen sich zeigte, daß das Cyanamid außerordentlich giftig ist, bereits in 0,1 %iger Lösung in Zuckerlösungen ohne sonstige Stickstoffbeigabe jede Entwicklung von Mikroorganismen verhindert. Ammoniak wird in solchen Lösungen nicht gebildet. — Auch durch die Untersuchungen von Immendorff und Kempski, S. 40 (5) wurde gezeigt, daß Calciumcyanamid ebenso wie seine nächsten Spaltungsprodukte, Cyanamid, Dicyandiamid und Cyanamidokohlensäure für Pflanzen außerordentlich giftig seien, und daß sie auf Pflanzen wie auf das Bakterienleben zerstörend einwirkten. Auch dem tierischen Organismus sind diese Substanzen schädlich; die tödlichen Gaben sind nach Kionka (6) für Kaninchen

	subcutan	innerlich
Cyanamid	0,1	0,75
Dicyandiamid	0,25	2,0
Cyanamidokohlensaurer Kalk	0,25	0,4

In der Arbeit von Stritt (7) sind die Versuche über die Giftwirkung in allen Fällen bestätigt; auch wurden von ihm ältere Arbeiten erwähnt. Schon Gergens und Baumann (8) und Coester (9) fanden die Giftwirkung des Cyanamids gegen warm- wie kaltblütige Tiere. Es ist ein Gift eigener Art und ruft eine Lähmung der Atmungsorgane hervor. Mit der Zersetzung des Kalkstickstoffs durch Bakterien beschäftigte sich zuerst Löhnis (10). Dieser sterilisierte Kalkstickstofflösungen, beimpfte sie mit Erde und fand eine Zersetzung unter NH_3-Bildung; er konnte auch Bakterien aus der ammoniakhaltigen Lösung isolieren, die wohl Harnstoff zersetzten, aber in nicht erhitzten Kalkstickstofflösungen keine NH_3-Entwicklung zustande brachten. In einer zweiten Arbeit (11) kam er dementsprechend zu der Ansicht, daß der bakteriellen Zersetzung des Cyanamids eine rein chemische Umwandlung vorangehen müsse, im Ackerboden in gleicher Weise wie beim Erhitzen, wobei eine dem Dicyandiamid isomere, noch nicht bekannte Verbindung, das Dicarbotetrimid entstehen sollte. Dieser Standpunkt wurde aber von ihm verlassen (12) und durch die Ansicht ersetzt, daß das Cyanamid durch Bakterien unangreifbar sei, und zuerst durch die Kohlensäure zu Harnstoff „verseift" werden müsse. Zu ähnlichen Ansichten gelangte Ulpiani (13), wie Kappen (14) ausführt: Er fand, daß die Abnahme des Gehaltes einer Kalkstickstofflösung und einer reinen Calciumcyanamidlösung an Cyanamid ganz gleichmäßig und unabhängig von einer Beimpfung der Lösungen mit 10 % Erde verlief; ferner ist von ihm fest-

gestellt, daß eine reine Cyanamidlösung ihren Gehalt an Cyanamid unverändert bewahrte, solange er sie aufbewahren mochte, und daß auch eine Beimpfung mit Erde keine Verminderung des Cyanamidgehaltes bewirkte. Er zog daraus den Schluß, daß das Cyanamid eine für Bakterien unangreifbare Substanz sei, und daß die Veränderungen, die beim Aufbewahren von Kalkstickstofflösungen vor sich gehen, durch die alkalische Wirkung des vorhandenen Ätzkalks hervorgerufen würden. Die entstehenden Nebenprodukte mit Ausnahme des Dicyandiamids sollen nun im Boden durch Bakterien ammonisiert werden, während das Dicyandiamid zum Aufbau der Leibessubstanz der Bakterien dient und erst nach deren Absterben durch Fäulnis in NH_3 angeblich übergeht.

Zu andern Ansichten kamen Perotti (15) und Kappen (16). Beide waren der Meinung, daß das Cyanamid durch Baktorien zersetzt werden könne. Perotti verwendete Kalkstickstofflösungen, die er pasteurisierte und dann mit Erde beimpfte; die Lösungen wurden durch Mikroorganismen zersetzt, und von letztern konnte Perotti auch eine gewisse Anzahl isolieren. Da aber beim Pasteurisieren 28% des Cyanamids zersetzt und die isolierten Mikroorganismen nicht auf ihre Fähigkeit, Cyanamid zu zersetzen, geprüft wurden, sind Perottis Versuche nicht überzeugend.

Kappen lieferte nun einen neuen Beitrag zu dieser Frage (14). Er verwendete Cyanamidlösungen, da in Kalkstickstofflösungen (wenn nicht durch Hinzufügung absorbierender Substanzen, wie Erde usw., für die Unschädlichmachung des Ätzkalks gesorgt wurde) ein Bakterienwachstum in der stark alkalischen Lösung ausgeschlossen war. Der Verfasser faßt die Ergebnisse seiner Versuche folgendermaßen zusammen:

1. Bei sachgemäßer Ausführung von Anhäufungsversuchen in Kalkstickstoff- und darauf in Cyanamidlösungen gelingt es, Bakterien zu züchten, die zur Zersetzung von Cyanamid unter bestimmten Verhältnissen befähigt sind. (Diese bestimmten Verhältnisse sind vor allem genügende Verdünnung, da die meisten dieser Organismen schon bei 0,1%igem $CyNH_2$ unwirksam werden, und Vorhandensein anderer organischer Nahrung.)

2. Eine verändernde Einwirkung von Kohlensäure auf Cyanamid in Nährlösung und im Boden konnte nicht festgestellt werden; ebensowenig wie die Kohlensäure, Milchsäure in Mengen, die bei Cyanamidzersetzungsversuchen in Frage kommen, zerstörend auf das Cyanamid einwirken. Die zweifellos fördernde Wirkung des Traubenzuckers auf die Umwandlung des Cyanamids in mit Bakterien oder Boden beimpften Lösungen kann daher nicht auf eine Zersetzung des Cyanamids durch die Vergärungsprodukte des Traubenzuckers zurückgeführt werden, sondern ist vielmehr als eine physiologische Beeinflussung der Bakterien aufzufassen.

3. In besonderm Grade scheint die Befähigung zu Cyanamidzersetzung gewissen Pilzen zuzukommen; in den beiden mitgeteilten Fällen hängt das möglicherweise mit dem starken Reduktionsvermögen der Pilze zusammen.

C. Wirkung des Dicyandiamids.

Durch die Möglichkeit der Entstehung des Dicyandiamids aus dem Calciumcyanamid im Ackerboden ist man gezwungen, sich auch mit dessen physiologischer Wirkung näher zu befassen.

Die entschiedene Giftigkeit Tieren gegenüber geht aus der schon oben zitierten Arbeit von Kionka (6) hervor. v. Seelhorst und Müther (l. c. 3) hatten die Giftigkeit des Dicyandiamids Pflanzen gegenüber erwiesen; Schultze (17) führt die schädigende Wirkung des oberflächlich gestreuten Kalkstickstoffs auf die Bildung von Dicyandiamid zurück. Nach Immendorff und Kempski (l. c. S. 40) wirkt Dicyandiamid nicht nur auf die Keimung der Samen schädlich, sondern auch bei Zuführung zu entwickelteren Pflanzen, wie sich bald durch die erscheinenden weißen Spitzen der Pflanzen zeigt.

Anderer Ansicht ist Perotti (18); er hält das Dicyandiamid für einen guten Stickstoffdünger; das Dicyandiamid soll sich im Boden aus dem Kalkstickstoff bilden, wodurch eine schädliche Verbindung beseitigt und den Pflanzen eine immer geeignetere Stickstoffquelle zur Verfügung gestellt wird. Er kommt zu folgenden Schlußfolgerungen:

1. Wässerige Dicyandiamidlösungen mit einem 2 bis 2,5‰ nicht übersteigenden Gehalt üben auf höhere Pflanzen keine schädliche Wirkung aus.

2. Die verschiedenen Pflanzen besitzen eine spezifisch verschiedene Widerstandsfähigkeit diesen Beeinflussungen gegenüber.

3. Bei 3 bis 4‰ oder noch höherem Dicyandiamidgehalte tritt außer der osmotischen noch eine Giftwirkung auf.

4. In geringerem Grade läßt sich störende Dicyandiamidwirkung bei niedern Organismen (Spirogyra, Bakterien) wahrnehmen.

5. Cyanamid richtet auch in ungeheuer verdünnten Lösungen größern Schaden als Dicyandiamid an.

6. Gleichzeitig mit der Aussaat verabfolgtes Dicyandiamid in einer 3 dz pro Hektar nicht überschreitenden Gabe stellt eine landwirtschaftlich verwendbare Stickstoffdüngung dar.

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen zwei neuere, japanische Arbeiten. Nach Aso (19) wirken Dicyandiamidmengen von 5 g auf 10 kg Boden zerstörend auf Pflanzenkulturen ein, doch bilden geringere Mengen, von 0,025% an angewendet, einen guten Stickstoffdünger. Das Anpflanzen soll am besten erst 3 Wochen nach erfolgter Düngung geschehen. Nach Inouye (20) übt Dicyandiamid, als Kopfdünger angewendet, wenn gewisse Grenzen nicht überschritten werden, eine bessere Wirkung aus als Ammoniak. Die Versuche ergaben, daß 1,5 g Dicyandiamid auf 8 kg Boden schädliche Wirkungen, insbesondere auf junge Pflanzen, ausübten, während 0,35 g von günstigem Resultate waren. Diese Ergebnisse lassen sich, wie nun aus einer neuesten Arbeit Perottis hervorgeht (21), dadurch erklären, daß das Dicyandiamid, wenn durch Verdünnung

eine Giftwirkung ausgeschlossen wird, von den Pflanzen direkt assimiliert werden kann. Daß Mikroorganismen Amidstickstoff zu assimilieren vermögen, ist schon lange bekannt (Literatur in Czapeks Biochemie der Pflanzen, 22), durch zahlreiche neue Arbeiten bestätigt, und für das Dicyandiamid ist es von Perotti gezeigt worden (23). Von der neuesten Literatur, dieses Thema betreffend, ist besonders Bierema, „Die Assimilation von Ammon-, Nitrat- und Amidstickstoff durch Mikroorganismen", zu nennen (24).

D. Wirkung von Dicyandiamidin.

Über die physiologische und düngende Wirkung des Dicyandiamidins liegen nur zwei Arbeiten vor.

Pozzoli (25) hat vergleichende Kulturversuche von Hafer in Sand mit Calciumcyanamid, Dicyandiamid und Dicyandiamidin angestellt und gefunden, daß in allen Fällen die gleichen physiologischen Störungen hervorgerufen wurden. Die zweite Arbeit rührt von Perotti (26) her, der fand, daß bei Dicyandiamidinsulfat und -chlorid enthaltenden Nährlösungen ein Fortbestehen der Bakterien und anderer Mikroorganismen, sowie die Keimung von Samen verschiedener Pflanzen (Weizen, Mais, Klee, Senf) nur möglich ist, wenn die Menge dieses Salzes 1% der Lösung nicht übersteigt. Die Salze des Dicyandiamidins wirken in mäßiger Menge im Ackerboden nicht schädlich.

E. Düngungsversuche mit Kalkstickstoff.

Die Resultate der älteren praktischen Düngungsversuche mit Kalkstickstoff finden sich in der schon mehrfach zitierten Broschüre Immendorffs und Kempskis: „Calciumcyanamid als Düngemittel" (5) zusammengestellt.

Die verschiedenen andern Forscher kommen zu den ganz gleichen Ergebnissen, daß die Umwandlung des Kalkstickstoffs von der Art des Bodens abhängig sei. So Kappen (27), neuerdings auch, wie schon zitiert, Löhnis und Sabaschnikow (11), Remy (28). Die Schlußergebnisse Immendorffs mögen im Auszuge hier wiedergegeben werden.

1. Der Stickstoffkalk ist kein Düngemittel für saure Humusböden, da nicht selten eine direkte Vergiftung der Kulturpflanzen eintreten kann.

2. Für leichte, wenig tätige Sandböden empfiehlt sich die Anwendung des Stickstoffkalkes aus demselben Grunde nicht.

3. Alle andern Böden, besonders die tonigen, feinerdigen, die „absorptionskräftig" sind, gestatten die Anwendung von Stickstoffkalk. Der neue Dünger wird hier wohl immer mit dem gleichen Erfolge angewendet werden wie schwefelsaures Ammoniak.

In allen den zuletzt angeführten Arbeiten wird besonderes Gewicht auf die Absorption durch den Boden gelegt. Kappen sagt: „Das in

den Boden gebrachte Calciumcyanamid wird durch die Absorptionskraft des Bodens und außerdem durch die Kohlensäure so zerlegt, daß das Cyanamid frei wird."

Löhnis: „Es zeigte sich, daß die Ansicht von v. Seelhorst und Immendorff richtig ist, daß nämlich den absorbierenden Kräften des Bodens bei der Zerlegung des Kalkstickstoffes eine wichtige Rolle beigemessen werden muß."

Remy: „Den schweren Böden steht vermutlich in ihrer größeren Absorptionskraft ein den leichten Böden fehlendes Abwehrmittel gegen die vom Kalkstickstoff ausgehenden Wirkungen auf die höheren Pflanzen und Bakterien zur Verfügung."

Es fragt sich aber, ob die günstige Wirkung der schweren Böden nicht auf andere Ursachen als ihre Absorptionskraft zurückzuführen ist, ob sie nicht das Cyanamid chemisch direkt beeinflussen? Der Versuch, eine in dieser Richtung liegende Erklärung zu finden, wird in dieser Arbeit gemacht werden.

Die neueren Literaturangaben über die Wirkung des Kalkstickstoffs sind außerordentlich zahlreich. Sie betreffen meist den Wirkungswert des darin enthaltenen Stickstoffes, im Vergleich zu anderen stickstoffhaltigen Düngestoffen, über die Zeit der Anwendung und dgl. mehr.

Die dabei gemachten theoretischen Erklärungen über die Wirkungsweise decken sich im wesentlichen mit den Zusammenstellungen von Immendorff und Kempski, so daß kaum ein Anlaß vorliegt, von diesem Gesichtspunkte aus betrachtet, in der „Einleitung" zu meinen experimentellen Arbeiten näher hierauf einzugehen.

II. Experimentelle chemische Untersuchungen.

In diesem Abschnitte finden sich die Ergebnisse von Untersuchungen über die Einwirkung verschiedener Agenzien auf das Cyanamid, während in dem folgenden das Verhalten von Mikroorganismen, keimenden Samen und höheren Pflanzen unter dem Einflusse des Cyanamids und einiger seiner Umsetzungsprodukte (des Dicyandiamids, Dicyandiamidins und Diguanids) behandelt wird.

In den zuerst angestellten chemischen Versuchen wurde eine Kalkstickstofflösung verwendet, die durch $2^1/_2$stündiges Schütteln (im Schüttelapparat) von 10 g Kalkstickstoff in $^1/_2$ l Wasser und nachherigem Abfiltrieren von dem unlöslichen Rückstand erhalten war. Die Lösung reagierte infolge des vorhandenen Ätzkalkes stark alkalisch. Der verwendete Kalk-

stickstoff stammte durchweg aus der Fabrik in Odda und zeichnete sich durch seine Freiheit von Teerölen aus, die anderen deutschen Fabrikaten in neuerer Zeit beigemengt werden.

Spätere Versuche wurden mit reinem Cyanamid gemacht. Da sich bisher in der Literatur keine Angaben für die Herstellung des Cyanamids aus dem Kalkstickstoff vorfanden, mußte dazu erst eine Methode ausgearbeitet werden. Die besten Resultate wurden erzielt, wenn ich den Kalk mit Oxalsäure ausfällte. In einem Kolben von 1 l Rauminhalt wurden 100 g Kalkstickstoff mit $^1/_2$ l Wasser zusammengebracht und der Kalk unter Schütteln und Kühlung mit der aus dem Kalkgehalt berechneten Menge Oxalsäure gefällt, in der Schüttelmaschine noch 2 Stunden geschüttelt, da der Kolbeninhalt ziemlich dick geworden war und sich deshalb schlecht mischte. Nach dem Abfiltrieren wurde das Filtrat im Vakuum abgedampft und der Rückstand dann 2mal aus Äther umkrystallisiert. Wenn der Kalkstickstoff vollkommen ölfrei gewesen war, erhielt man ein schönkrystallisiertes, bei 40° schmelzendes Produkt, das sich im Exsiccator ohne Zersetzung beliebig lange aufbewahren ließ. Die Ausbeute bei diesem Verfahren beträgt 75 bis 80%. Zur Bestimmung der Reinheit dieses Cyanamids wurden von einer wässerigen Lösung, die ca. 4 g auf 1 l enthielt: 1. 25 ccm zur direkten N-Bestimmung genommen; N = 61,49 mg; 2. in 25 ccm das Cyanamid mit ammoniakalischer Silberacetatlösung gefällt, und der Stickstoff im Niederschlag bestimmt; die Analyse ergab N = 61,49 mg; das Produkt war also vollkommen reines Cyanamid.

Cyanamid wie Dicyandiamid wurden nach einer im Prinzip von N. Caro ausgearbeiteten, noch nicht von ihm veröffentlichten Methode so bestimmt, daß man das Cyanamid aus ammoniakalischer Silberacetatlösung (100 g Silberacetat werden in einem Literkolben mit 400 ccm 10%iger Ammoniaklösung übergossen und die Flüssigkeit mit Wasser bis zu 1 l aufgefüllt) fällt und im Niederschlage den Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Aus dem Filtrat fällt nach Zusatz von Kalilauge das weiße Silbersalz des Dicyandiamids aus, in dem auch der Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt wird. Die beiden Niederschläge wurden auf quantitativen Filtern gesammelt und mit dem Filter verbrannt.

Der mögliche Fehler bei den N-Bestimmungen ist 0,1 bis 0,2 ccm der zum Titrieren benutzten Natronlauge, von der 1 ccm = 0,00336 g N entsprach; also höchstens 0,34 bis 0,67 mg N.

A. Einfluß des Alkalis auf Kalkstickstofflösung.

Wurde die alkalische Kalkstickstofflösung längere Zeit bei Zimmertemperatur aufbewahrt, so war der Cyanamidgehalt erheblich vermindert, ohne daß das Dicyandiamid zugenommen hätte.

Verwendet sind 25 ccm der Lösung von vorhin angegebener Konzentration. Die Zahlenangaben sind Milligramm Stickstoff.

	Cyanamid-N mg	Dicyand.-N mg	Summe beider	Abnahme des Cyanamid-N mg
Vor dem Versuch	69,89	0,54	70,43	—
1. Versuch nach 14 Tagen	33,90	0,54	34,44	35,99
2. „ „ 3 Wochen	20,16	0,54	20,70	49,73

Weitere Versuche wurden bei Siedehitze gemacht; 25 ccm Kalkstickstofflösung wurden unter verschiedenen Bedingungen je 1 Stunde auf dem Wasserbade erhitzt.

	Cyanamid-N mg	Dicyand.-N mg	Zunahme des Dicyand. mg	Abnahme des Cyanamids mg
Vor dem Versuch	74,73	1,44	—	—
Lösung allein erhitzt . .	51,60	6,99	5,55	23,13
Mit noch 100 ccm Kalkwasser erhitzt	15,05	6,72	5,28	59,68
Mit HCl neutr. und mit MgO erhitzt	48,38	9,54	8,10	26,35
Mit 2,5 g Soda erhitzt .	30,10	5,36	3,92	44,63

In der Siedehitze ist also Dicyandiamid gebildet, außerdem aber Cyanamid in starkem Maße zersetzt worden. Was dabei entstand, ist nicht ermittelt worden. Diese Versuche beweisen, daß in der benutzten Lösung bei gewöhnlicher Zimmertemperatur kein Dicyandiamid gebildet wird. Dies entsteht erst beim Erhitzen. Die Temperaturgrenze für seine Bildung wurde später festgestellt.

B. Einfluß von Säuren auf Kalkstickstofflösung.

Beim Kochen mit starken Säuren wird das Cyanamid zersetzt, aus dem Dicyandiamid entsteht ein Salz des Dicyandiamidins. Hier war zunächst der Einfluß geringer Mengen schwacher Säuren festzustellen. Von der zur Analyse dienenden Flüssigkeit sind 25 ccm genommen.

	Cyanamid-N mg	Dicyandiamid-N mg	
Vor dem Versuch	74,73	1,44	
Mit 10%iger Essigsäure bis zur sauren Reaktion versetzt, 24 St. gestanden	74,73	1,44	
1 St. CO_2 eingeleitet	74,45	1,44	
CO_2 eingeleitet und 1 St. gekocht	68,54	6,04	
Mit 10 g Torf 24 St. stehen gelassen	71,96	0,85	etwas Cyanamid wurde vom Torf zurückgehalten

Aus den unter A und B mitgeteilten Zahlen ist zu sehen, daß schwache Säuren keinen zersetzenden Einfluß auf das Cyanamid haben und daß Dicyandiamid nur in alkalischer Lösung, besonders beim Erwärmen gebildet wird, und eine durch die Alkalien bewirkte weitergehende Zersetzung rascher als die Dicyandiamidbildung fortschreitet.

C. Oxydations- und Reduktionsmittel.

In weitern Versuchen wurde der Einfluß von Oxydations- und Reduktionsmitteln untersucht. Permanganatlösung bewirkte in der Wärme nach 1stündiger Einwirkung kaum eine Veränderung; Devardasche Legierung reduzierte das Cyanamid kräftig zu NH_3, und außerdem nahm die Menge des Dicyandiamid zu.

	Cyanamid-N mg	Dicyandiamid-N mg	
Vor dem Versuch	69,89	1,34	
Mit $KMnO_4$	64,70	0,45	
„ Devardas Legierung	12,80	14,11	viel Dicyandiamid gebildet

D. Bedingungen für die Bildung von Dicyandiamid.

Es war nach allem ziemlich wahrscheinlich geworden, daß die Umwandlung des Cyanamids in alkalisch reagierender Lösung

hauptsächlich Dicyandiamid als bleibendes Endglied gibt. Da die bisherigen Versuche nur mit dem alkalisch reagierenden wässerigen Auszuge von Kalkstickstoff ausgeführt worden waren, wurden nun neue mit reinem Cyanamid nochmals unter verschiedenen Bedingungen angesetzt, um zu ersehen, unter welchen Verhältnissen hieraus Dicyandiamid gebildet wird. Die angewendeten Lösungen waren ohne Ausnahme verdünnt, ungefähr 4 g $CyNH_2$ auf 1 l Wasser, da das $CyNH_2$ im Ackerboden nach geschehener Düngung noch verdünnter, nie aber in konzentriertem Zustande vorkommt.

Die Lösung enthielt:

$CyNH_2$-Stickstoff = 61,49 mg,
Gesamt- „ = 61,49 mg,

es war also ganz rein. Verwendet wurden je 25 ccm (stets sind annähernd 4 g Cyanamid in 1 l Wasser gelöst und der genaue Gehalt durch Stickstoffbestimmungen ermittelt) teils in neutraler, teils mit 0,0025 g Citronensäure angesäuerter Lösung. Bei einem dritten Versuch war ein Zusatz von 0,25 g $CaCO_3$ gegeben. Die Mischungen wurden im Thermostaten 24 Stunden lang bei 25°, 35° und 45° stehen gelassen; außerdem bei Zimmertemperatur von 17°. Die Ergebnisse waren die folgenden:

(Angaben = Milligramm Stickstoff.)

	Neutral		Mit Kalk ($CaCO_3$)		Angesäuert	
	$CyNH_2$-N mg	Dicyand.-N mg	$CyNH_2$-N mg	Dicyand.-N mg	$CyNH_2$-N mg	Dicyand.-N mg
17°	61,49	—	61,82	—	61,49	—
25°	61,14	—	61,15	—	61,15	—
35°	61,49	—	61,14	—	61,14	—
45°	61,82	—	61,15	—	61,14	—

Die kleinen Unterschiede sind wahrscheinlich Bestimmungsfehler. Dicyandiamid hatte sich in keinem Falle gebildet, ebenso war keine merkliche Umwandlung in andere Produkte beobachtet. Der ganze Versuch wurde wiederholt und dasselbe Resultat erhalten. Vielleicht war die Dauer von 24 Stunden zu kurz, um eine Umwandlung in dem Maße herbeizuführen, daß sie nachgewiesen werden konnte. Es wurde nun derselbe Versuch, aber mit der Dauer einer Woche, wiederholt:

	Neutral		Mit Kalk		Angesäuert	
	$CyNH_2$	Dic.	$CyNH_2$	Dic.	$CyNH_2$	Dic.
Vor dem Versuche	65,86	—	—	—	—	—
Bei 25°	65,86	—	64,18	—	64,52	—
„ 35°	65,18	—	53,76	—	52,75	—
„ 45°	56,78	—	53,76	—	57,71	—
Von ders. Lösung 25° 1 St. gekocht	64,18	—	45,70	13,44	66,19	—

Bei Temperaturen bis 45°, wie sie ja in den oberen, von den Sonnenstrahlen erhitzten Bodenschichten vorkommen, wird demnach keine Dicyandiamidbildung, wohl aber eine bei alkalischer Reaktion etwas stärkere Umwandlung des $CyNH_2$ zu beobachten sein; nach 1stündigem Kochen war jedoch in der durch Kalk schwach alkalischen Flüssigkeit Dicyandiamid entstanden, fast quantitativ der Abnahme des Cyanamids entsprechend; also ein neuer Beweis dafür, daß sich Dicyandiamid in verdünnter Lösung nur unter dem Einfluß von Alkali bildet, wenn das Alkali auch nur sehr schwach ist.

Jetzt handelte es sich darum zu erfahren, 1. ob nur der Kalk oder auch alkalische Erden und Alkalien diese Bildung bewirken, 2. von welcher Temperatur an die Bildung des Dicyandiamids vor sich geht. Es wurden also 1. je 25 ccm mit je 0,25 g von MgO, $MgCO_3$, Na_2CO_3, $Fe(OH)_3$ und zum Vergleich noch mit $CaCl_2$ und $CaSO_4$ als Kalksalzen (da möglicherweise nur diese die Umwandlung bewirkten) 1 Stunde lang gekocht. Die Ergebnisse waren die folgenden:

	Cyanamid-N mg	Dicyandiamid-N mg	Summe aus beiden mg
Lösung allein . .	65,52	—	65,52
0,25 g MgO . . .	38,64	21,17	59,81
„ „ $MgCO_3$ . .	36,62	19,49	65,11
„ „ Na_2CO_3 . .	13,44	27,55	40,99
„ „ $Fe(OH)_3$ . .	9,07	—	9,07
„ „ $CaCl_2$ . . .	65,52	—	65,52
„ „ $CaSO_4$ . . .	64,81	—	64,81

Hieraus geht klar hervor, daß die Bildung von Dicyandiamid nur bei Gegenwart von Oxyden, Hydroxyden oder Carbonaten der Alkalien oder alkalischen Erden vor sich geht. Die Menge der Nebenprodukte war bei diesen Versuchen, wie

aus den Summen der Stickstoffzahlen zu sehen ist, gering. Nur beim Eisenhydroxyd zeigte sich eine bedeutende Verminderung des Cyanamids, ohne daß Dicyandiamid gebildet worden wäre; dies wurde später noch eingehender untersucht.

2. Bei 65° und 75° blieben je 25 ccm der Cyanamidlösung mit 0,25 g $CaCO_3$ versetzt 24 Stunden lang im Wasserbade, und waren dabei besondere Vorrichtungen getroffen, um ein Verdampfen des Wassers hintanzuhalten:

	Cyanamid-N mg	Dicyandiamid-N mg	Summe beider mg
Vor dem Versuch .	65,18	—	65,18
65°	53,76	—	53,76
75°	33,60	21,17	54,77

Die Temperatur, von der anfangend sich Dicyandiamid bildet, muß also zwischen 65° und 75° liegen.

Nun wurden nochmals je 25 ccm derselben Lösung 24 St. bei 75° im Wasserbade stehen gelassen, mit je 0,25 g von $CaCO_3$ bzw. $MgCO_3$, Na_2CO_3.

	Cyanamid-N mg	Dicyandiamid-N mg	Summe beider mg
Vor dem Versuch .	65,18	—	65,18
$CaCO_3$	29,90	24,55	54,45
$MgCO_3$	21,17	31,92	53,11
Na_2CO_3	22,51	29,57	52,08

Danach ist die Entstehung des Dicyandiamids durch den Einfluß der Carbonate von Alkalien oder alkalischen Erden bei Temperaturen über 65° nachgewiesen.

E. Einwirkung von Ackererde auf das Cyanamid.

Es handelte sich um die Frage, ob die im Boden vor sich gehende Umsetzung des Cyanamids allein der Lebenstätigkeit von Bakterien zuzuschreiben sei, oder ob der Boden selbst auch chemisch an der Cyanamidzersetzung mitwirke. Schon Ulpiani (l. c.) hatte eine durch den Boden veranlaßte, von Bakterien unabhängige Zersetzung konstatiert. Für die nachstehend beschriebenen Versuche wurde in sterilen Kölbchen eine zuckerhaltige, sterile Nährlösung, die ca. 0,1 g Cyanamid bzw. 0,5 g

Kalkstickstoff in 25 ccm Wasser gelöst enthielt, einmal mit 10 g steriler, während 2 Stunden im Autoklaven bei 3 At. sterilisierter Erde und das andre Mal mit 10 g nicht sterilisierter Erde versetzt und der Gehalt an Stickstoff in Form von Cyanamid nach 14 Tagen bestimmt. Die während des Versuchs eingehaltene Temperatur war 25° C. Die Zahlenangaben sind Milligramm Stickstoff.

		Cyanamid-N			
		Befund vorher	Befund nachher		
			nicht steril	steril	
		mg	mg	mg	
Gartenerde	+		30,91	30,91	
Lehm	$CyNH_2$	65,18	28,22	27,55	Dicyandiamid u. Ammoniak
Gartenerde	+		41,66	41,66	waren nicht
Lehm	Kalkstickstoff	93,41	47,38	46,37	gebildet

Um festzustellen, wieviel Cyanamid von der Erde dabei absorptiv festgehalten worden war, wurde ein vergleichender Versuch mit verschiedenen Bodenarten mit Cyanamid und Ammonsulfat angestellt.

50 g Boden (lufttrocken) wurden mit 200 ccm $^n/_{10}$-Lösung unter öfterem Umschütteln 24 Stunden stehen gelassen und dann in 100 ccm des Filtrates der Gesamt-Stickstoff bestimmt.

Unter Berücksichtigung des geringen Wassergehaltes des Bodens, waren enthalten in 100 ccm der Lösung:

	N des $(NH_4)_2SO_4$	N des $CN.NH_2$	Absorbiert wurden mg N des	
	mg	mg	$(NH_4).SO_4$	Cyanamids
Vor dem Versuch	271,52	125,00	—	—
Mit Lehmboden	236,58	115,30	34,96	9,7
„ Humusboden	216,32	117,00	59,20	8,0
„ sandigem Lehmboden	244,48	119,20	27,04	5,8

Hieraus ergibt sich, daß Cyanamid vom Boden in erheblich geringerer Menge absorbiert wird als Ammoniak.

Bei folgenden Versuchen sind dieselben Verhältnisse wie bei den vorletzten eingehalten, die Lösungen waren aber wesentlich dünner.

Die Lösung enthielt:	Cyanamid	Umgewandelter Cyanamid-N mg	Kalkstickstoff	Umgewandelter Cyanamid-N mg
Vorher	30,25	1,02	33,26	8,06
Nach 14 Tagen	29,23		25,20	
Mit nicht steriler Erde:				
Gesamt-N mg	29,19	10,37	32,26	7,34
Cyanamid-N mg	18,82		24,92	
Mit steriler Erde:				
Gesamt-N mg	30,91	8,40	32,29	5,75
Cyanamid-N mg	22,51		26,54	

Vergleicht man die für Gesamtstickstoff angegebenen Zahlen, so ergibt sich, daß von einer Absorption des als Cyanamid, bzw. als Calcium-Cyanamid vorhandenen Stickstoffs kaum die Rede sein kann, wenn wie bei den letzten Versuchen die Lösungen dünn sind.

Außerdem geht aus diesen Versuchen hervor, daß sterile wie nicht sterile Erde ungefähr die gleichen Mengen von Cyanamid zersetzt haben; beim Kalkstickstoff ist (da auch in der nicht mit Erde versetzten Lösung das Cyanamid sich vermindert hat) die Abnahme der Wirkung des Kalkes zuzuschreiben. Eine Bakterienwirkung ist auch aus dem Grunde schon ausgeschlossen, weil, wie aus den Untersuchungen Kappens (l. c.) folgt, die hier verwendete Menge des Cyanamids wegen ihrer Giftwirkung ein Wachstum von Mikroorganismen nicht aufkommen läßt. Dicyandiamid war im vorliegenden Falle, auch beim Kalkstickstoff, nicht gebildet. Wenn Erde auf das Cyanamid durch chemische und nicht durch biologische Einflüsse zersetzend einwirkte, so mußte diese Wirkung auch beim Kochen sichtbar werden. Dabei erinnerten wir uns an den früher erwähnten, zersetzenden Einfluß des Eisenhydroxyds auf Cyanamid und nahmen zum Vergleich 2 sehr eisenreiche, aus Deutsch-Ostafrika stammende, uns von Dr. Vageler, Königsberg, freundlichst überlassene Erdproben, von denen je 10 g mit 25 ccm unserer Cyanamidlösung (stets sind annähernd 4 g Cyanamid in 1 l Wasser gelöst und der genaue Gehalt durch Stickstoffbestimmungen ermittelt) 1 Stunde lang unter Rückfluß des verdunstenden Wassers auf dem Wasserbade erhitzt wurden:

	Cyanamid-N mg	Umgewandelter N mg	
Vor dem Versuch	30,24	—	Dicyandiamid war nicht gebildet; das von der Erde zurückgehaltene $CyNH_2$ ist nicht berücksichtigt
Mit Gartenerde	14,76	15,48	
„ afrikanischer Erde (Nr. 28)	13,44	16,80	
„ „ „ (Nr. 12)	12,18	18,06	
Zum Vergl. Eisenhydroxyd . .	11,09	19,15	
Kieselsäure	28,70	1,54	
Platinmohr 0,25 g	29,89	0,35	

Hieraus geht hervor, daß Eisenhydroxyd (bzw. Eisenoxyd) sehr stark auf das Cyanamid einwirkt. Nochmals wurde in ganz gleicher Weise mit frisch gefälltem Eisen- und Aluminiumhydroxyd, mit geglühtem Eisenoxyd- und Manganoxyd verfahren.

	Cyanamid-N mg	Umgewandelter N mg	
Vor dem Versuch . . .	64,85	—	Die voluminösen Niederschläge enthielten alle 0,61 mg N; Dicyandiamid war nicht gebildet
10 g $Fe(OH)_3$	47,04	17,81	
10 g $Al(OH)_3$	58,46	6,39	
Fe_2O_3 (geglüht)	12,10	52,75!	
Mn_2O_3	44,36	20,49	

Die starke umwandelnde Wirkung des Eisenoxyds ist genau zu ersehen. Dabei sei bemerkt, daß schon v. Seelhorst-Müther (l. c.) den günstigen Einfluß fanden, den „caput mortuum“ und Zeolithe, die bei Vegetationsversuchen zugesetzt worden waren, auf diese Versuche hatten; ihre Erklärung, nach der der günstige Einfluß auf einer Absorption des giftigen Phosphorwasserstoffs beruhen soll, wie auch die Kappens, der die günstigen Ergebnisse bestätigte, sie aber auf eine Absorption des Kalks zurückführt, ist also nicht richtig gewesen.

Der von v. Seelhorst und auch Kappen gefundene Einfluß der Zeolithe wurde nun auch noch nachgeprüft. Verwendet ist ein von Dr. Ganz, Berlin, künstlich hergestellter Natronzeolith; es wurden davon 0,25 g mit Cyanamid und 25 ccm Wasser 1 Stunde erhitzt.

	Gesamt-N mg	Cyanamid-N mg	Dicyandiamid-N mg	Umgewandelter N mg
Vorher	63,84	57,79	—	—
Mit Zeolith erwärmt	62,50	33,94	14,78	15,12

Die Bildung von Dicyandiamid war auffällig und wir überzeugten uns, daß der künstliche Zeolith, mit Wasser gekocht, eine schwach alkalische Reaktion zeigt, aus diesem Grunde ist dieser Versuch nicht maßgebend. Es wäre besser gewesen, ein natürlich vorkommendes zeolithhaltiges Material zu nehmen.

F. Harnstoffbildung unter dem Einfluß von Eisenoxyd.

Um zu ermitteln, welcher Körper aus dem Cyanamid durch den Einfluß des Eisenoxyds entsteht, wurden auf dem Wasserbade 10 g Cyanamid mit überschüssigem Eisenoxyd so lange erhitzt, bis kein Cyanamid (durch die Silberreaktion) mehr nachzuweisen war. Die Flüssigkeit haben wir vom Eisenoxyd abfiltriert, sie auf dem Wasserbade verdunstet, den Rückstand in Alkohol gelöst und ihn aus Alkohol zweimal umkrystallisiert. Die Annahme lag nahe, daß es sich hier um Harnstoff handelte; die Analyse erwies diese Vermutung als richtig.

Der Schmelzpunkt war = 132°, der N-Gehalt gef.: 46,21%,
ber.: 46,67%.

Das Pikrat wurde noch hergestellt;
Schmelzpunkt = 142°, N gef.: 14,44%,
ber.: 14,53%.

Auf welche Weise das Eisen hier wirkt, konnte nicht festgestellt werden; wahrscheinlich ist seine Wirkung nur eine katalytische. Das Cyanamid geht mit dem Eisen keine Verbindung ein. Es wurden in der Richtung mehrere Versuche angestellt, die alle ohne Resultat waren. Einer möge angeführt werden: Im Kalkstickstoff wurde der Kalk durch Eisenoxalat gefällt; im Filtrat war kein Eisen-Cyanamid nachzuweisen, auch war kein Cyanamid dabei zersetzt worden. Die Frage nach der Art der Wirkung des Eisenoxyds bleibt also noch offen; festgestellt ist nur, daß unter seinem Einflusse aus dem Cyanamid Harnstoff gebildet wird. Ob Eisenoxyd allein im Boden wirkt, und ob nur Harnstoff oder außerdem andere dem Harnstoff ähnliche Verbindungen gebildet werden, müssen spätere Versuche noch aufklären. Dabei ist aber noch immer, wenn die Giftwirkung des Cyanamids nicht durch zu starke Konzentrationen fraglos ist, eine Mitarbeit von Mikroorganismen an der Cyanamidzersetzung möglich.

Physiologische Versuche mit Calciumcyanamid und einigen daraus hergestellten Verbindungen.

Von

Fr. Reis.

(Aus dem Agrikultur-chemischen Institut der Universität Königsberg.)

(Eingegangen am 2. März 1910.)

Physiologische Wirkungen des Cyanamids und einiger seiner Umsetzungsprodukte.

Diese Versuche erstrecken sich auf Mikroorganismen, keimende Samen und höhere Pflanzen, und wurden mit Kalkstickstoff bzw. Cyanamid, Dicyandiamid, Dicyandiamidin und Diguanidsulfat angestellt. Die Konzentration der Lösungen dieser Verbindungen sollte in allen Fällen ungefähr die gleiche sein. Die Nährlösungen, in oder auf denen die Mikroorganismen kultiviert wurden, enthielten 1 g Stickstoff in 1 l Nährlösung gelöst.

Die Vegetationsversuche mit höheren Pflanzen wurden in großen Gefäßen aus gebranntem und glasiertem Ton, die unten einen siebartigen Einsatz hatten, um eine gute Durchlüftung des Bodens zu ermöglichen, ausgeführt. Es sind die gleichen Gefäße, wie sie schon seit vielen Jahren bei Vegetationsversuchen sich bewährt haben. Die Oberfläche der Gefäße war 386 qcm, der Fassungsraum für Erde (je nach dem spez. Gewicht und der Porosität des Bodens) ungefähr 8 bis 11 kg, auf Bodentrockensubstanz bezogen.

Von dem benutzten Quarzsand wurden 9,9 kg in jedes Gefäß, das eine stets gleiche Tara hatte, eingefüllt. Diese 9,9 kg nahmen 2,05 kg Wasser bis zur völligen Sättigung auf. Es ist üblich, daß man während des Wachstums so viel Wasser zufügt, als 60% des Sättigungsvermögens entspricht.

Es wurde eine mittlere und eine starke Stickstoffdüngung gegeben. Die erstere (in den nachfolgenden Tabellen „schwache" Düngung, im Vergleich zur „starken" genannt) bestand aus je 0,119 g Stickstoff für ein Gefäß in Form der verschiedenen Stickstoffverbindungen, die starke Düngung aus 0,179 g Stickstoff. (Wollte man die kleine Oberfläche von 386 qcm auf 1 ha umrechnen, so würde dies 30 bzw. 45 kg Stickstoff für 1 ha entsprechen.)

Die Versuche mit Mikroorganismen wurden in Reagensgläsern ausgeführt, in die je 10 ccm folgender Nährlösung abgefüllt waren:

auf 1000 ccm Wasser	auf 1000 ccm Wasser
1 g Stickstoff,	1 g K_2HPO_4,
5 g Traubenzucker,	0,25 g $MgSO_4$

N in Form der nachstehend genannten Stickstoffverbindungen.

Nach dem Sterilisieren wurden zuerst die stickstoffhaltigen Substanzen, die in wenig Wasser gelöst und für sich sterilisiert waren, zugegeben. Bei einer zweiten Versuchsreihe sind zum Vergleich außerdem Pepton bzw. Ammonsulfat der Lösung zugesetzt. In jedem Reagensglase waren 10 ccm Flüssigkeit enthalten mit folgenden Mengen von Substanz:

von Cyanamid und Dicyanamid, Stickstoffgehalt	= 66,65%	0,015 g
Dicyandiamidinchlorhydrat, Stickstoffgehalt	= 40,43 „	0,025 „
Diguanidsulfat, Stickstoffgehalt	= 30,15 „	0.033 „
Ammonsulfat, Stickstoffgehalt	= 10,60 „	0,095 „
Pepton		0,1 „

Die Kulturen in Cyanamid und Dicyandiamid wurden mit und ohne Pepton angesetzt, um zu sehen, ob die zuerst genannten Stoffe direkt assimiliert werden oder ob sie bei Gegenwart von Pepton als Gifte wirken. Alle Kulturen wurden doppelt angesetzt. Die Reaktion der Nährlösungen war neutral.

In den beiden folgenden Tabellen bedeutet:

0 gar nicht gewachsen,

1 sehr wenig, ohne zu fruktifizieren,

2 Wachstum gehemmt, bedeutend langsamer als in Peptonlösung.

3 Wachstum wie in Peptonlösung.

(Die Kulturen stammten fast sämtlich aus dem Bot. Lab. des Instit. f. Gärungsgewerbe zu Berlin.)

Irgendwelche Regelmäßigkeiten sind nicht zu beobachten; bemerkenswert ist nur:

1. Daß das Dicyandiamid in einigen Fällen in geringem Maße resorbiert wurde, aber nie in der angewandten Verdünnung giftig wirkte.

2. Daß das Cyanamid nur bei Penic. gl., wenn auch in sehr geringem Maße, als Nahrung dienen konnte, aber in allen Fällen die Entwicklung hinderte und meist die Organismen zum Absterben brachte.

3. Dicyandiamidin kann von recht wenigen, Diguanid von mehreren Organismen assimiliert werden.

4. Ammoniak (als Spaltungsprodukt) konnte nur in ganz geringer Menge in der $CyNH_2$-Lösung bei Penic. gl. nachgewiesen werden (mit Neßlers Reagens).

Durch die Freundlichkeit des Herrn Dr. Kappen, Jena, erhielten wir von der Landw. Versuchsstation der Universität

Jena mehrere Pilze, die Cyanamid bei genügend starker Verdünnung zersetzen können.

A. Fadenpilze.

(Mit Streptothrix und Hefe.)

	Pepton	Ammonsulfat	Cyanamid	Cyanamid u. Pepton	Dicyandiamid	Dicyandiamid u. Pepton	Dicyandiamidin	Diguanid
Streptothrix rubra . .	3	3	0	0	0	3	2	3
Mucor stolonifer . . .	3	0 (Gemmen)	0	1 (Gemmen)	1	3	1	1
Dematium pullulans .	3	2	0	1	1	3	0	3
Oidium lactis	3	3	0	1	2	3	2	3
Cladosporium herbarum	3	1	0	0	0	3	0	0
Fusarium purpureum .	3	3	0	0	1	3	1	0
Botrytis cinerea . . .	3	0	0	0	1	3	1	0
Trichothecium roseum	3	3	0	0	1	3	1	2
Penicillium glaucum .	3	3	2	2	2	3	3	3
„ purpureum	3	3	0	0	0	3	0	3
Aspergillus niger . . .	3	0	0	0	1	3	1	0
„ oryzae . .	3	3	0	1	2	3	3	3
Hefe Frohberg	3	1	0	0	1	3	0	1

Pilz I (ein Cladosporium); Pilz II (Penicillium brevicaule); Pilz III (ein Penicillium gl.); Pilz IV . . .?; Pilz V (Stysanus stemonitis); diese wurden in unsere Cyanamidlösung übertragen; nur Penicillium brevicaule vertrug deren Konzentration, die anderen versagten. Demnach sind auch diese Pilze sehr empfindlich gegen Cyanamid und die hieraus hergestellten Stickstoffverbindungen. Wir lassen dahingestellt, ob an der Umwandlung des Cyanamids im Ackerboden Schimmelpilze wesentlich mit beteiligt sind.

B. Boden- und Wasserbakterien.

Diese Versuche wurden in derselben Weise mit den gleichen Lösungen angesetzt, wie die bei den Fadenpilzen.

	Pepton	Ammonsulfat	Cyanamid	Cyanamid u. Pepton	Dicyandiamid	Dicyandiamid u. Pepton	Diacyandiamidin	Diguanid
Sarcina aurantiaca	3	2	0	0	0	3	0	0
Bacillus vulgaris	3	0	0	2	0	3	0	0
„ coli	3	2	0	0	0	3	0	0
„ pyocyaneum	3	0	0	2	0	3	0	3
„ subtilis	3	3	0	1	0	3	0	0
„ megatherium . . .	3	2	0	0	0	3	0	0
Azotobacter chroococcum . .	0	3	0	0	0	–	0	0
Knöllchenbakterien von Erbse	3	0	0	0	0	3	0	0
Ammoniakbakterien aus Torf	3	0	0	0	0	3	0	0
Bacillus radiobacter.	3	3	0	0	0	3	0	0

Zu dieser Tabelle ist noch zu bemerken, daß bei Bac. pyocyaneum, der reduzierend wirkt, in der Cyanamidlösung mit Neßlerschem Reagens Spuren von gebildetem Ammoniak nachweisbar waren; ob aus dem vorhandenen Cyanamid oder dem Pepton läßt sich nicht sagen. In einer Lösung, die als stickstoffhaltige Substanz nur Cyanamid enthielt, konnte der Bacillus sich nicht entwickeln. Bei Bac. vulgaris und Bac. subtilis, die auf Peptonlösung bei Gegenwart von Cyanamid wuchsen, wie auch in den Kulturen mit Dicyandimid war kein Ammoniak gebildet.

Wenn auch in diesen Versuchen die Zahl der verwendeten Bakterienarten gering und die Nährlösungen den betreffenden Organismen nicht besonders angepaßt waren, so ist doch zu sehen, daß eine Konzentration des Cyanamids von $1\,^0/_{00}$ N zu stark ist, um ein üppiges Gedeihen der Mikroorganismen, auch bei reichlicher Gegenwart von organischen Nährstoffen, zu gestatten. So werden wir nach dem allen die Zersetzung des Cyanamid im Boden in erster Linie doch in rein chemischen und nicht in biologischen Umsetzungen zu suchen haben. Möglicherweise wird hier beinahe das ganze Cyanamid zuerst in Harnstoff (vielleicht auch in andere dem Harnstoff ähnliche Stickstoffverbindungen) übergeführt werden, und erst der Harnstoff im Boden einer Umsetzung in Ammoniak durch Bakterien bzw. der darauffolgenden Nitrifikation unterliegen. Geringe Cyanamidmengen können dabei von Mikroorganismen, wie Kappen bewiesen hat, direkt aufgenommen und gespalten werden, aber wichtiger als die Umsetzung des Cyanamids durch Mikroorganismen scheint die rein chemische Wirkung des Bodens zu sein. Wir haben nachgewiesen, daß insbesondere Eisenoxyd in dieser Hinsicht wirksam ist, außerdem dürften auch andere, insbesondere in Tonböden enthaltene Bestandteile hierbei von Wichtigkeit sein.

C. Versuche mit keimenden Samen.

Die N-haltigen Verbindungen sind in Lösung und in gleicher Konzentration wie bei den vorhergehenden Versuchen angewendet: 1 g N auf 1 l Wasser. Von Gerste, Lupinen, Hafer wurden je 100, von Senf und Gras je 200 Samen genommen und die gekeimten Samen zum ersten Male am 4., zum zweiten Male am 8. Tage gezählt. Der erste Versuch wurde nur mit Gerste und Senf, mit allen 5 N-haltigen Verbindungen, der zweite dagegen nur mit Dicyandiamid allein ausgeführt.

	Gerste in %		Senf in %		Setzt man die Keimfähigkeit in reinem Wasser = 100, so ist sie für				
						Gerste		Senf	
	am 4. Tage	am 8. Tage	am 4. Tage	am 8. Tage		am 4. Tage	am 8. Tage	am 4. Tage	am 8. Tage
Wasser . .	57	59	93	93					
Cyanamid .	—	—	—	—	Cyanamid .	0	0	0	0
Dicyandiamid . .	35	36	81	81	Dicyandiamid . .	61,40	61,01	87,09	87,09
Dicyandiamidinsulf.	32	32	55	55	Dicyandiamidinsulf.	56,14	54.23	59,13	59.13
Diguanidsulf.	41	44	62	70	Diguanidsulf.	71,92	74,57	66,66	75,26

	Wasser		Dicyandiamid		Setzt man die Keimfähigkeit in reinem Wasser = 100, so ist sie bei		
						Dicyandiamid	
	am 4. Tage	am 8. Tage	am 4. Tage	am 8. Tage		am 4. Tage	am 8. Tage
Gras (Lolium italicum) .	52	59	36	46	Gras (Lolium italicum) .	69.23	77,96
Hafer . . .	77	81	69	71	Hafer . . .	89,61	87,65
Senf (Sinapis alba) . .	95	97	93	95	Senf (Sinapis alba) . .	97,89	97,93
Gerste . . .	57	59	35	36	Gerste . . .	61,40	61,01

Leider war ein vorjähriger Hafer und eine vorjährige Gerste von geringer Keimfähigkeit verwendet. Trotzdem ist der Einfluß der Stickstoffverbindungen auf die Keimung klar zu ersehen. Es ist zu sehen, daß, wie schon Immendorff (l. c.) zeigte, daß Cyanamid die Keime der Samen vernichtet; aber die Behauptung Ulpianis (l. c.), Dicyandiamid habe in nicht übertrieben großen Mengen keinen, oder sogar einen günstigen Einfluß auf die Keimung, ist nicht stichhaltig.

In unserm Versuche wirkten Diguanid und Dicyandiamidin ebenso schädigend wie Dicyandiamid, wahrscheinlich wegen der Schwefelsäure, an die sie gebunden waren. Bei Dicyandiamid waren die Keime der Samen ungefähr um die Hälfte gegen diejenigen zurückgeblieben, die im Keimbett lagen, das mit reinem Wasser angefeuchtet war. Auch waren die Wurzeln bedeutend schwächer entwickelt.

D. Gefäßversuche mit höheren Pflanzen.

Die Versuchspflanzen waren Raygras (Lol. italicum), Hafer, Mais, weißer Senf und Ricinus. Jeder Versuch wurde 4mal angesetzt. Als Stickstoffdünger dienten: Chilisalpeter, Kalksalpeter, Ammonsulfat, Kalkstickstoff, Dicyandiamidinsulfat, Diguanidsulfat und Dicyandiamid. (Über die Beschaffenheit der Gefäße siehe Näheres auf S. 476, Abs. 2.)

Die Oberfläche der Gefäße war 386,9 qcm. Für jedes Gefäß wurden verwendet: 5 g Thomasmehl (mit 15,48% P_2O_5) und 4,6 g Kalihartsalz (mit 16,47% K_2O) als Grunddüngung. Das Schema für die Düngung war folgendes:

10	Gefäße	ohne Stickstoff.	
20	„	mit Chilisalpeter (15,94% N); davon	0,660 g
20	„		0,995 g
20	„	„ Kalksalpeter (12,6% N); davon	0,522 g
20	„		0,786 g
20	„	„ Ammonsulfat (21% N); davon	0,551 g
20	„		0,827 g
20	„	„ Kalkstickstoff (16,66% N); davon	0,960 g
20	„		1,04 g
20	„	„ Dicyandiamidinsulfat (31,18% N); davon	0,371 g
20	„		0,557 g
20	„	„ Diguanidsulfat (31,18% N); davon	0,371 g
20	„		0,577 g
20	„	„ Dicyandiamid (66,67% N); davon	0,173 g
20	„		0,260 g

Allgemeine Bemerkungen.

Der benutzte Boden bestand bei Senf, Raygras und Ricinus aus reinem Quarzsand, der ein schwaches Absorptionsvermögen hatte und in recht geringem Grade befähigt war, die Umsetzung des Cyanamids zu beeinflussen. Der Mais wurde in einen Lehmboden ausgesät, der im vorigen Jahre wiederholt weißen Senf getragen hatte und nur noch Spuren von aufnahmefähigen Stickstoffverbindungen enthielt.

Bezüglich der angewendeten Mengen der Düngstoffe sei bemerkt, daß wir unter Berücksichtigung der Bodenoberfläche eines jeden Gefäßes solche Mengen gaben, als annähernd 200 kg Kali, 200 kg Phosphorsäure und 30 bzw. 45 kg Stickstoff für 1 ha entsprochen haben würde. Bei den sehr verschiedenen Größenverhältnissen ist selbstverständlich eine genaue Übertragung nicht möglich; wir beabsichtigten, Kali und Phosphorsäure im Überschuß und vom Stickstoff so viel zu geben, als man bei einer mittleren bzw. starken Düngung zu nehmen pflegt.

Mit Kalkstickstoff und Ammonsulfat wurde am 7. Mai 1909 gedüngt, mit den übrigen Stickstoffdüngern am 16. Mai, ausgesät am 13. und 14. Mai. Anfang Juni trat in dem mit Dicyandiamid, Diguanid und Dicyandiamidinsulfat gedüngten Boden bei Senf Stickstoffhunger auf; die organischen N-Verbindungen waren also nicht imstande, das N-Bedürfnis zu decken. Auch bei Hafer bleiben die Pflanzen in den mit Dicyandiamid gedüngten Töpfen sichtbar zurück und bekommen gelbe Spitzen.

Befund am 1. Juli: Senf und Gras haben (auf Sandboden) durch den Kalkstickstoff eine deutliche Schädigung erfahren, eine schädigende Wirkung des Dicyandiamids ist nicht zu sehen. Der mit Dicyandiamid gedüngte Hafer wird immer schlechter, Dicyandiamid kann also nicht als N-Nahrung dienen. Auch bei Dicyandiamidin und Diguanid stehen

Senf und Gras nur kümmerlich, die Zersetzungsprodukte des Cyanamids können also nicht als N-Dünger verwendet werden. Der Aufgang der Samen war dagegen nirgends geschädigt.

Befund am 14. Juli. Gras: Dicyandiamid hat scheinbar keine Wirkung, Diguanid schwach schädigend, Dicyandiamidin stark schädigend; Kalkstickstoff wirkt schlecht. Am besten sind die mit Ammoniak gedüngten Pflanzen.

Senf: Kalkstickstoff hat wie die andern organischen N-Dünger schlecht gewirkt.

Hafer: Kalkstickstoff steht etwas hinter NH_3 und Salpeter zurück; seine Umsetzungsprodukte wirken schlecht.

Ricinus: Ammoniak und Salpeter geben üppigen Stand, Kalkstickstoff schwächer, Amidin und Diguanid zeigen keine Differenzen gegen Kalkstickstoff.

Senf wurde am 21. Juli geschnitten und Hafer nachgepflanzt; dieser am 1. Oktober geerntet.

Gras wurde am 4. August zum ersten Male und am 1. Oktober zum zweiten Male geschnitten.

I. Hafer (mit nachfolgendem Hafer).

A. Erste Haferernte vom 17. August.

Boden: Quarzsand.

	Trockensubstanz pro Gefäß	Stroh	Körner	Stickstoff in 100 g		Stickstoff in Gramm geerntet aus 4 Gefäßen			Setzen wir den durch Chilisalp. hervorgebrachten Mehrertrag an Trockensubstanz der Ernteprodukte = 100, so wurde erhalten
				Stroh	Körner	Stroh	Körner	Gesamt	
Ohne Stickstoff . .	115	90	25	0,739	2,050	0,665	0,513	1,178	
Chilisalpeter									
schwach . . .	133	105	28	0,840	2,318	0,882	0,649	1,531	100
stark	129	105	24	0,806	2,520	0,846	0,605	1,451	
Kalksalpeter									
schwach . . .	132	105	27	1,041	2,152	1,093	0,635	1,728	106
stark	132	112	20	1,041	2,318	1,166	0,464	1,630	
Ammonsulfat									
schwach . . .	132	103	29	0,806	2,218	0,830	0,643	1,473	96
stark	129	95	35	0,806	2,218	0,766	0,754	1,520	
Kalkstickstoff									
schwach . . .	125	95	30	0,840	2,284	0,798	0,686	1,484	− 62
stark	72	50	22	0,874	2,218	0,437	0,488	0,925	− 268
Dicyandiamidinsulf.									
schwach . . .	102	85	17	1,007	2,285	0,856	0,388	1,244	− 70
stark	105,5	90	15,5	0,907	2,218	0,816	0,344	1,160	
Diguanidsulfat									
schwach . . .	109	90	19	0,874	2,050	0,787	0,390	1,177	− 103
stark	88	70	18	0,739	1,848	0,517	0,333	0,850	
Dicyandiamid									
schwach . . .	50	38	12	0,672	1,478	0,562	0,177	0,739	− 361

Hafer wurde am 17. August geerntet und nochmals Hafer nachgepflanzt.

Mais und Ricinus wurden am 2. Oktober geschnitten.

Bezüglich der Aussaatmengen sei folgendes erwähnt: Von Lolium erhielt jedes Gefäß 1 g, die Saat ist gleichmäßig ausgestreut und ordnungsmäßig eingebettet. Vom Senf wurden je 2 g in eine Anzahl 1 cm tiefe Rinnen eingesät und diese mit Sand ausgefüllt. Vom Hafer wurden je 35 Samen gesät und nach Verlauf von 3 Wochen 7 der schwächsten Pflanzen beseitigt. Vom Mais sind je 3 Samen in jedes Gefäß gebracht und nach 2 Wochen die beiden schwächsten Pflanzen entfernt. Ricinus wurde im Frühbeet angetrieben und später je eine kräftige Pflanze in jedes Gefäß gesetzt.

Der Stickstoff im Chilisalpeter, Kalksalpeter mit schwefels. Ammoniak, hat eine annähernd gleiche Wirkung auf die Erzeugung von organischer Trockensubstanz der Ernteprodukte gezeigt. Ein starker Abfall findet beim Kalkstickstoff und den daraus hergestellten Erzeugnissen statt. In dem reinen Quarzsand konnte keine Umsetzung in aufnehmbare Stickstoffverbindungen geschehen, es hat sogar eine direkte Schädigung der Pflanzen bei der Keimung stattgefunden, die, wie z. B. beim Dicyandiamid zu ersehen ist, durch die Stickstoffsubstanz an und für sich bedingt wurde, aber auch beim Kalkstickstoff durch vorhandenen Ätzkalk, bei den schwach sauer reagierenden Sulfaten des Amidins und Diguanids durch

B. Zweite Haferernte vom 1. Oktober.

	Die Ernteprodukte enthielten Trockensubstanz (aus 4 Gefäßen) g	Mehrgehalt im Vergleich zu den Pflanzen bei stickstofffreier Düngung	Stickstoff in %	Stickstoff in Gramm pro 4 Töpfe
Ohne Stickstoff . .	5	—	3,158	0,158
Chilisalpeter				
schwach . . .	5	0	3,326	0,166
stark	5	0	3,326	0,166
Kalksalpeter				
schwach . . .	5	0	3,461	0,173
stark	5	0	3,427	0,171
Ammonsulfat				
schwach . . .	6	1	3,696	0,222
stark	7	2	3,528	0,247
Kalkstickstoff				
schwach . . .	6	1	3,360	0,202
stark	6	1	3,091	0,185
Dicyandiamidinsulf.				
schwach . . .	5	0	3,293	0,165
stark	6	1	3,427	0,206
Diguanidsulf.				
schwach . . .	4	−1	2,990	0,120
stark	5	0	2,755	0,138
Dicyandiamid				
schwach . . .	4	−1	2,285	0,091
stark	4	−1	2,352	0,094

die Schwefelsäure außerdem bedingt sein kann, da der Quarzsand nicht imstande war, weder die alkalische, noch die saure Substanz zu neutralisieren. Besonders große Unterschiede bemerken wir bei einem Vergleich zwischen den Erfolgen einer schwächeren und stärkeren Düngung mit Kalkstickstoff. Nach der Haferernte wurde, obgleich es spät in der Jahreszeit war, nochmals Hafer ausgesät, dieser unreif am 1. Oktober geerntet und der Gehalt an Trockensubstanz und Stickstoff in den oberirdischen Pflanzenteilen festgestellt.

Aus dem in der Tabelle S. 484 wiedergegebenen Versuche ist zu ersehen, daß eine recht schwache Nachwirkung durch Ammoniak und Kalkstickstoff eintrat, die Schädigung auf die Keimung und erste Entwicklung der Pflanzen dauert bei Dicyandiamid und Diguanidsulfat noch fort.

II. Weißer Senf (mit nachfolgendem Hafer).

A. Senf. Ernte vom 21. Juli.

In Quarzboden.

	Geerntete Trockensubstanz pro 4 Gefäße: Organische	Stickstoff: in %	Stickstoff: in Gramm pro 4 Gefäße	Den Mehrertrag der organ. Trockensubstanz bei Chilisalpeter (gegen N-freie Düngung) = 100 gesetzt, wird erhalten:
Ohne Stickstoff . .	22,4	17,5	2,975	0,520	—
Chilisalpeter					
schwach . . .	32	25,8	2,921	0,752	100
stark	33	26,9	3,541	0,952	
Kalksalpeter					
schwach . . .	31,4	25,2	3,109	0,784	109
stark	36,5	29,2	3,529	1,028	
Ammonsulfat					
schwach . . .	26,5	21,0	3,380	0,712	32
stark	26,5	21,6	3,198	0,712	
Kalkstickstoff					
schwach . . .	16	11,3	4,505	0,512	— 69
stark	16	10,6	4,698	0,324	— 77
Dicyandiamidinsulf.					
schwach . . .	15,5	12,4	2,591	0,348	— 72
stark	13,5	10,3	3,386	0,360	
Diguanidsulfat					
schwach . . .	14,5	11,9	3,019	0,348	— 44
stark	16,5	13,5	2,577	0,324	
Dicyandiamid					
schwach . . .	16,5	13,1	3,299	0,432	— 43
stark	17,5	14,2	3,420	0,436	

Sehr auffällig ist die geringe Wirkung des Ammoniaks bei Senf, die im Gegensatz zu anderen diesbezüglichen Beobachtungen steht. W. Krüger (29) machte Versuche mit einer Mischung bestehend aus

gleichen Teilen Sand und Lauchstädter Erde mit Zusatz von 10 g kohlensaurem Kalk auf je 6 kg Bodentrockensubstanz gerechnet. An Stickstoff in Form von schwefelsaurem Ammoniak wurden teils 0,5, teils 1,0, teils 2,0 g für 6 kg Boden gegeben. Die Senfpflanzen nahmen das Ammoniak leicht auf.

Wir arbeiteten unter ganz anderen Verhältnissen. Der Boden bestand aus reinem Quarzsand, ohne Kalk und ohne tonige oder andere Bodenbestandteile. Unter diesen Verhältnissen hat es den Senfpflanzen vielleicht Mühe gemacht, die Schwefelsäure vom Ammoniak zu trennen, oder die etwa frei gewordene Schwefelsäure wirkte auf die Wurzeln des Senfes nachteilig ein. Wir haben unter Bedingungen gearbeitet, die auf die Verhältnisse der landwirtschaftlichen Praxis nicht übertragbar sind. Die mangelhafte Wirkung des Ammoniaks auf Senf wurde bei der Nachfrucht Hafer einigermaßen ausgeglichen.

B. Hafer. Ernte vom 2. Oktober.

	Geerntete Trockensubstanz in Gramm für 4 Gefäße	Stickstoff in %	Stickstoff in Gramm pro 4 Gefäße	Setzen wir die Mehrerträge, die nach Düngung mit Chilisalpeter bei Senf und Hafer zusammengenommen erzielt wurden = 100, so sind geerntet:
Ohne Stickstoff . .	10	2,285	0,229	—
Chilisalpeter				
schwach . . .	10	2,352	0,235	100
stark	8	2,486	0,199	
Kalksalpeter				
schwach . . .	9	2,150	0,194	115
stark	12	2,554	0,306	
Ammonsulfat				
schwach . . .	14	2,352	0,329	86
stark	12	2,352	0,282	
Kalkstickstoff				
schwach . . .	22	2,318	0,510	+ 73
stark	16	2,218	0,355	— 11
Dicyandiamidinsulf.				
schwach . . .	13	2,150	0,280	— 57
stark	11	1,512	0,166	
Diguanidsulfat				
schwach . . .	7	1,646	0,115	— 86
stark	9	2,352	0,212	
Dicyandiamid				
schwach . . .	8	2,318	0,185	— 61
stark	10	1,982	0,198	

Bei der zweiten Kulturpflanze (Hafer), die nach Senf in denselben Boden ohne nochmalige Düngung gebaut wurde, ist

die Ertragsdifferenz nach Gebrauch von schwefelsaurem Ammoniak wieder ausgeglichen. Auch ist recht beachtenswert, daß der Wirkungswert des Kalkstickstoffs von — 64 auf + 31 stieg. Dagegen haben Dicyandiamidinsulfat, Diguanidsulfat und Dicyandiamid ihre schädigende Wirkung auch bei der zweiten Kultur gezeigt.

III. Gras (Lolium italicum). 2maliger Anbau und 2malige Saat hintereinander.

A. Ernte vom 4. August.

Quarzsandboden.

	Geerntete Trockensubstanz pro 4 Gefäße: Organische	Stickstoff: in %	Stickstoff: in Gramm pro 4 Gefäße	Den Mehrertrag an organ. Trockensubstanz bei Chilisalpeter (gegen stickstofffreie Düngung) = 100 gesetzt:
Ohne Stickstoff . .	16 14,2	2,76	0,392	—
Chilisalpeter				
schwach . . .	24 21,4	2,41	0,516	100
stark	24,5 21,8	3,07	0,668	
Kalksalpeter				
schwach . . .	20 17,6	2,35	0,416	73
stark	24,5 21,7	3,11	0,676	
Ammonsulfat				
schwach . . .	21,5 19,2	2,33	0,448	81
stark	24 21,3	2,34	0,510	
Kalkstickstoff				
schwach . . .	10,5 9,2	3,62	0,332	— 67
stark	12,5 11	3,85	0,424	— 56
Dicyandiamidinsulf.				
schwach . . .	— —	—	—	Nichts gewachsen!
stark	— —	—	—	
Diguanidsulfat				
schwach . . .	1 0,81	2,14	0,020	— 181
stark	1 0,8	2,52	0,020	
Dicyandiamid				
schwach . . .	6 5,8	2,57	0,136	— 130
stark	4,5 3,8	2,70	0,104	

Wie bei allen übrigen Gefäßversuchen war auch bei dem in den folgenden Tabellen wiedergegeben Versuchen bei der zweiten Aussaat eine neue Düngung nicht gegeben. Auffällig ist die geringere Wirkung des Kalksalpeters im Vergleich zu derjenigen des Chilisalpeters und des schwefelsauren Ammoniaks. Der Wirkungswert des Kalkstickstoffs stieg in dem reinen Quarzsandboden von — 57 bei der zweiten Aussaat auf + 5. Die verheerende Wirkung von Dicyandiamid und den Sulfaten des Dicyandiamidins und des Diguanids tritt hier ganz besonders wohl aus dem Grunde hervor, weil die Grassamen klein sind und von der Bodenlösung leicht durchtränkt werden.

B. Gras. 2. Kultur. Ernte vom 2. Oktober.

	Geerntete Trockensubstanz in Gramm pro 4 Gefäße	Organische Trockensubstanz in Gramm pro 4 Gefäße	Stickstoff in %	Stickstoff in Gramm pro 4 Gefäße	Der Mehrertrag an organ. Trockensubstanz bei beiden Grasernten zusammengenommen (für Chilisalpeter gegen stickstofffreie Düngung = 100 gesetzt) ergibt:
Ohne Stickstoff . .	18	16,9	1,106	0,199	—
Chilisalpeter					
schwach . . .	20	18,7	0,970	0,194	100
stark	21	19,5	2,166	0,455	
Kalksalpeter					
schwach . . .	20	18,5	1,996	0,239	74
stark	20	18,7	1,878	0,380	
Ammonsulfat					
schwach . . .	25	23,5	1,069	0,267	100
stark	17	15,5	2,095	0,356	
Kalkstickstoff					
schwach . . .	19	17,6	2,207	0,419	— 44
stark	27	24,5	2,180	0,589	+ 45
Dicyandiamidinsulf.					
schwach . . .	—	—	—	—	Nichts gewachsen!
stark	—	—	—	—	
Diguanidsulfat					
schwach . . .	5	4,5	1,878	0,094	— 321
stark	5	4,4	2,073	0,104	
Dicyandiamid					
schwach . . .	14	12,4	1,927	0,270	— 193
stark	4	3,6	2,244	0,089	

IV. Ricinus.

Ernte vom 2. Oktober 1909.

In Sandboden (Quarzsand).

	Trockensubstanz	Stickstoff in %	Stickstoff in Gramm pro 4 Gefäße	Setzen wir den durch Chilisalpeter hervorgebrachten Mehrertrag an Trockensubstanz = 100, so wurde erhalten:
Ohne Stickstoff . .	67	1,378	0,923	—
Chilisalpeter				
schwach . . .	100	1,344	1,344	100
stark	134	1,378	1,847	
Kalksalpeter				
schwach . . .	105	1,378	1,447	91
stark	120	1,612	1,934	
Ammonsulfat				
schwach . . .	112	1,411	1,580	102
stark	124	1,747	2,166	
Kalkstickstoff				
schwach . . .	79	1,575	1,244	— 24
stark	69	1,747	1,205	+ 4

IV. Ricinus. Ernte vom 2. Oktober 1909. (Fortsetzung.)

	Trockensubstanz	Stickstoff in %	Stickstoff in Gramm pro 4 Gefäße	Setzen wir den durch Chilisalpeter hervorgebrachten Mehrertrag an Trockensubstanz=100, so wurde erhalten:
Dicyandiamidinsulf.				
schwach . . .	87	1,680	1,462	27
stark	74	1,848	1,368	
Diguanidsulfat				
schwach . . .	77	1,781	1,371	20
stark	—	—	—	
Dicyandiamid				
schwach . . .	47	1,781	0,837	— 39
stark	48	1,310	0,629	

V. Mais.

Ernte vom 2. Oktober 1909.

Der Anbau fand in Lehmboden statt, der im Vorjahre durch wiederholten Anbau von weißem Senf vollständig arm an aufnehmbarem Stickstoff gemacht war. Der Boden erwies sich für Mais als reichlich schwer, die Oberfläche neigte zur Krustenbildung.

	Trockensubstanz in Gramm	Stickstoff in %	Stickstoff in Gramm pro 4 Gefäße	Setzen wir den durch Chilisalpeter hervorgebrachten Mehrertrag an Trockensubstanz=100, so wurde erhalten:
Ohne Stickstoff . .	90	0,840	0,756	—
Chilisalpeter				
schwach . . .	165	0,907	1,497	100
stark	210	0,941	1,976	
Kalksalpeter				
schwach . . .	152	0,907	1,379	93
stark	210	0,874	1,835	
Ammonsulfat				
schwach . . .	140	0,907	1,270	50
stark	138	0,941	1,299	
Kalkstickstoff				
schwach . . .	135	0,874	1,180	46
stark	140	0,974	1,364	51
Dicyandiamidinsulf.				
schwach . . .	127	0,840	1,067	40
stark	132	0,870	1,148	
Diguanidsulfat				
schwach . . .	80	0,870	0,696	— 20
stark	83	0,806	0,669	
Dicyandiamid				
schwach . . .	83	0,941	0,781	— 10
stark	88	0,840	0,739	

Chilisalpeter, Kalksalpeter und schwefelsaures Ammoniak erwiesen sich in dem in der Tabelle IV. Ricinus (S. 488 u. 489) wiedergegeben Versuche in ihrer Wirkung auf die Erhöhung der Trockensubstanz der Ernteprodukte annähernd gleich. Wir sehen wieder den starken Abfall der Wirkung nach Düngung mit Kalkstickstoff, Dicyandiamidinsulfat und Diguanidsulfat in dem Sandboden. Dicyandiamid hat auf die Keimung und Entwicklung der Pflanzen nachteilig gewirkt.

Chilisalpeter und Kalksalpeter haben (namentlich nach den stärkeren Gaben) in dem in der Tabelle V. Mais (S. 489) wiedergegebenen Versuche gleichartig gewirkt. Unerklärlich ist die schwache Wirkung von Ammoniak. Ebenfalls hätte der Kalkstickstoff in dem Lehmboden (der allerdings durch vorjährige Kulturen an aufnehmbaren Stickstoffverbindungen absichtlich vollständig erschöpft war) eine bessere Wirkung zeigen müssen. Die nachteilige Wirkung von Diguanid und Dicyandiamid tritt in diesem Boden in wesentlich geringerem Grade hervor als im Quarzsand.

Nebenversuche. In drei Vegetationsgefäßen war eine Düngung mit Kali und Phosphorsäure, aber zunächst kein Stickstoff gegeben. Vier Wochen nach dem Aufgange der Maispflanzen je eine Düngung mit Dicyandiamid, Dicyandiamidinsulfat und Diguanidsulfat. Nur die mit Dicyandiamidinsulfat gedüngten Pflanzen wuchsen weiter, in den anderen Gefäßen zeigten die Pflanzen dauernd die Zeichen eines ausgeprägten Stickstoffhungers. — Weitere Beobachtungen sind bei Tomaten gemacht, die in Vegetationsgefäßen gezogen und eine kräftige Düngung (Stickstoff als Kalksalpeter gegeben) erhalten hatten. Als sie ungefähr 25 cm hoch gewachsen waren, wurde mit Dicyandiamidinsulfat, Diguanidsulfat und mit Dicyandiamid in gleichen Mengen gedüngt, wie früher bei Ricinus und Mais geschehen. Weder in der weiteren Entwicklung der Pflanzen noch in der Zahl der Früchte war irgend ein Unterschied mit denjenigen Tomatenpflanzen zu beobachten, die diese Stickstoffdünger nicht erhalten hatten.

Dies Ergebnis entsprach ganz unseren Erwartungen. Die betreffenden Stickstoffverbindungen haben auf Keimpflanzen eine ganz andere Wirkung als auf Pflanzen, die bereits in voller Entwicklung begriffen sind und denen außerdem andere aufnehmbare Stickstoffdünger zur Verfügung stehen.

IV. Kurze Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse.

Das Cyanamid, der wirksame, wertgebende Bestandteil des Kalkstickstoffs, ist ein heftiges Gift. Es wirkt gleich schädlich auf Bakterien, Pilze, auf die Keimung der Samen und auf wachsende Pflanzen, sofern ihnen keine andere Stickstoffquelle zu ihrer Ernährung zur Verfügung steht. Auch für Tiere ist das Cyanamid, wie in einer anderen Veröffentlichung gezeigt werden wird, ein Gift. Trotzdem kann, wie namentlich auch aus den Mitteilungen von Kappen hervorgeht, in einer Flüssigkeit, die in einem Liter weniger als 1 g Cyanamid enthält, das

Cyanamid von gewissen Mikroorganismen verwertet werden. Von uns wurde, wie auch schon früher von Ulpiani, gezeigt, daß in mit steriler Erde versetzter Cyanamidlösung der Cyanamidgehalt stetig abnimmt, daß also eine direkte Wirkung der Erde hier angenommen werden muß.

Wie das Cyanamid können nach unseren Untersuchungen von gewissen Mikroorganismen auch Dicyandiamid, Dicyandiamidin und Diguanid in Lösungen, die 0,1% dieser Substanzen enthielten, assimiliert werden, eine Bestätigung für die schon länger bekannte Tatsache der direkten Assimilation von Amidsubstanzen durch Mikroorganismen; bzw. es sind bestimmte Pilze und Bakterien befähigt, sich allmählich an das Gift zu gewöhnen. Eine Ammoniakabspaltung konnte dabei nicht konstatiert werden.

Da der Kalkstickstoff unzweifelhaft einen hohen Wert als Düngemittel hat, ist es von Interesse, diejenigen Umstände noch genauer als dies bisher möglich war, kennen zu lernen, unter denen das Cyanamid in nutzbare Verbindungen umgesetzt wird, bzw. unter welchen Verhältnissen es seine Giftwirkung beibehält.

Um in letzterer Hinsicht Erfahrungen zu sammeln, sind die Vegetationsversuche mit höheren Pflanzen fast ausschließlich in reinem Quarzsand ausgeführt, von dem anzunehmen war, daß die Veränderung des Cyanamids und der aus ihm hergestellten Stickstoffverbindungen in rein chemischer Hinsicht eine sehr geringe sein würde. Es waren demnach Verhältnisse geschaffen, unter denen die Giftwirkung besonders stark hervortreten mußte. Es hatte ein Interesse, in dieser Hinsicht nicht nur den Kalkstickstoff, sondern auch das Dicyandiamid, das Dicyandiamidinsulfat und das bisher noch nicht geprüfte Diguanid zu Versuchen zu verwenden.

Wurden die betreffenden Verbindungen vor der Aussaat der Samen in den Boden gebracht und ihnen keine andere Stickstoffnahrung dargeboten, so machte eine Giftwirkung sich deutlich bemerkbar, wie aus den mitgeteilten Tabellen zu ersehen ist. Waren die Verbindungen an bereits im Wachstum begriffenen höheren Pflanzen gegeben, so konnte das Dicyandiamidinsulfat in beschränktem Grade zur Stickstoffernährung benutzt werden, während Dicyandiamid und Biguanidsulfat nicht

verwendbar waren, aber auch keinen sichtbaren Nachteil auf im Wachstum begriffene Pflanzen ausübten, denen andere assimilierbare Stickstoffverbindungen zur Verfügung stehen.

Auf die Keimung von Samen wirkten Dicyandiamid, Diguanidsulfat und Dicyandiamidinsulfat gleich schädlich, die beiden letzteren wahrscheinlich wegen der starken Säure; Cyanamid vernichtete überhaupt die Keimkraft der Samen.

Wenn also der Kalkstickstoff dennoch ein gutes Düngemittel ist, muß er im Boden eine Umwandlung in absorbierbare Pflanzennahrung erfahren. Die von manchen Forschern angenommene Umwandlung in Dicyandiamid kann im Boden nicht vor sich gehen, da, wie von uns nachgewiesen wurde, sie bei Gegenwart von Alkali, und erst bei Temperaturen geschieht, die über 65° C liegen, Verhältnisse, die im Boden auch bei stärkster Sonnenbestrahlung nicht vorhanden sind. Auch steht dieser Ansicht die Giftwirkung des Dicyandiamids gegenüber, die, wenn das Dicyandiamid sich aus dem Kalkstickstoff im Boden bilden würde, nicht mit dessen bei richtiger Anwendung günstigen Wirkung in Einklang zu bringen wäre. Aus dem Kalkstickstoff muß demnach ein anderer Körper entstehen. Wir sind deshalb gezwungen, eine rein chemische Einwirkung des Bodens auf das Cyanamid anzunehmen. Wie es uns nachzuweisen gelang, wirkt Eisenoxyd auf dasselbe so ein, daß Harnstoff entsteht; wahrscheinlich sind noch andere Bestandteile des Bodens in gleicher Richtung tätig. Der entstehende Harnstoff würde dann erst einer weiteren Umwandlung durch Mikroorganismen in Ammoniak und Salpetersäure unterliegen.

Literatur.

1. Drechsel, Beiträge zur Kenntnis des Cyanamids. Journ. f. prakt. Chem. 11, 209, 284, 307, 1875.

2. Meyer, Einwirkung der Kohlensäure auf einige Cyamide. Journ. f. prakt. Chem. 18, 419, 1878.

3. v. Seelhorst-Müther, Versuche mit Kalkstickstoff. Journ. f. Landw. 1905, 354.

4. Behrens, Das Schicksal des Calciumcyanamids im Boden. Jahresber. d. großh. bad. landw. Versuchsanst. Augustenburg 1904. (Nach Deutsche landw. Presse 1905, Nr. 92, S. 770.

5. Immendorff und Kempski, Calciumcyanamid als Düngemittel. Stuttgart 1907.

6. Kionka, Die Giftigkeit von Kalkstickstoff und Stickstoffkalk. Fühlings landw. Zeitg., Jahrg. 58, 397, 1909.

7. Stritt, Über die Giftwirkung der als Düngemittel verwandten Cyanverbindungen. Inaug.-Diss., Jena 1908.

8. Gergens und Baumann, Arch. f. d. ges. Physiol. 12, 105, 1876. (Nach Kionka, l. c.)

9. Coester, Beitrag zur Kenntnis der Wirkung des Cyanamids. Med. Inaug.-Diss., Kiel 1896. (Nach Kionka, l. c.)

10. Löhnis, Über die Zersetzung des Kalkstickstoffes. Centralbl. f. Bakt. 14, II, 87.

11. Löhnis und Sabaschnikow, Neuere Untersuchungen über die Zersetzung und Wirkung von Kalkstickstoff und Stickstoffkalk. Fühlings landw. Zeitg. 1908, Heft 1.

12. Löhnis und Moll, Über die Zersetzung des Kalkstickstoffs. Centralbl. f. Bakt. 22, II, 254.

13. Ulpiani (nach Kappen, 14), Gazzetta chimica italiana 38, II, 1908.

14. Kappen, Versuche zur Züchtung cyanamidzersetzender Bakterien. Centralbl. f. Bakt. 24, II, 383.

15. Perotti (nach Kappen, 14), Archivio di farm. sperim. e scienze affini. August 1906.

16. Kappen, Berichtigung einiger Irrtümer in den Forschungen über Kalkstickstoff. Fühlings landw. Zeitg., Jahrg. 57, 283, 1908.

17. Schultze, Versuche mit Kalkstickstoffdüngung. Fühlings landw. Zeitg., Jahrg. 56, 157.

18. Perotti, Über das physiologische Verhalten des Dicyandiamids mit Rücksicht auf seinen Wert als Düngemittel. Centralbl. f. Bakt. 18, II, 50, 1907.

19. Aso, On Manouring with Dicyandiamide. Journ. Coll. Agric. Tokio 1, 211, 1909.

20. Inouye, On the Application of Dicyandiamide as a Nitrogeneous Manour. Journ. Coll. Agric. Tokio 1, 193, 1909.

21. Perotti, Über die Stickstoffernährung der Pflanzen durch Amidsubstanzen. Centralbl. f. Bakt. 24, II, 373, 1909.

22. Czapek, Biochemie der Pflanzen. Jena 1905. 2, Kap. 31, § 1, S. 95.

23. Perotti (nach Perotti, 21), Sui bacteri della diciandiamide. Ann. Bot. 6, fasc. 3, 1908.

24. Bierema, Die Assimilation von Ammon-, Nitrat- und Amidstickstoff durch Mikroorganismen. Inaug.-Diss., Leipzig 1909.

25. Pozzoli (nach Perotti, 21), Ricerche sulla calciociamide. Atti del VI. Congr. intern. di Chimica, applicata in Roma, 4, 348.

26. Perotti, Physiologische und düngende Wirkungen der Dicyandiamidinsalze. Societa chimica di Roma. 22. März 1908. (Nach Chem.-Zeitg. 41, 497, 1908.)

27. Kappen, Die Absorption des Kalkstickstoffs im Ackerboden. Landw. Versuchsstat. 68, 381.

28. Remy, Untersuchungen über die Wirkung des Kalkstickstoffs auf verschiedenen Bodenarten. Landw. Jahrb., Erg.-Bd. 4, 1906.

29. Krüger, Über die Bedeutung der Nitrifikation für die Kulturpflanzen. Landw. Jahrb. 34, 766.

Über das Antitrypsin.

Von

S. Cobliner.

(Aus der inneren Abteilung des städt. Krankenhauses zu Wiesbaden.)

(Eingegangen am 6. April 1910.)

Obwohl das Vorkommen von Antifermenten im Blutserum seit längerer Zeit bekannt war, wurde doch erst in der letzten Zeit diesem Gegenstande mehr Interesse entgegengebracht. Hauptsächlich an die Arbeiten von Müller und Jochmann[1]) über die Hemmungskraft genuinen Serums gegenüber dem proteolytischen Leukocytenferment und die Arbeiten von Brieger und Trebing[2]) über den Antitrypsingehalt des Serums bei Carcinomatösen schlossen sich zahlreiche Untersuchungen an.

Brieger und Trebing wiesen auf ein fast konstantes Vorkommen einer Erhöhung des antitryptischen Titers im Serum Carcinomatöser hin und glaubten, diese Tatsache beim Carcinom diagnostisch verwerten zu können. Die Erwartungen, die an diese „Carcinomreaktion" sich geknüpft hatten, erfüllten sich nicht. Durch verschiedene Arbeiten, besonders durch die von v. Bergmann und Meyer[3]) konnte festgestellt werden, daß diese Reaktion absolut nichts Spezifisches für Carcinom hatte. Sie und andere bestätigten zwar den Befund von Brieger und Trebing, konnten aber auch bei anderen Erkrankungen eine Steigerung des antitryptischen Titers nachweisen, so daß Schlüsse aus dem positiven Ausfall der Reaktion

[1]) Müller und Jochmann, Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 29 und 31.

[2]) Brieger und Trebing, Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 22.

[3]) v. Bergmann und K. Meyer, Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 37.

nur mit Vorsicht aufzunehmen seien. In weiteren Arbeiten von Brieger und Trebing[1]) wird diese Reaktion als Kachexiereaktion aufgefaßt, und sie stellen sie in Beziehung zu dem vermehrten Organeiweißumsatz, wie er bei Krankheiten, die zur Kachexie führen, vorkommt. Zahlreiche Mitteilungen aus dem letzten Jahre konnten aber zeigen, daß eine Erhöhung des antitryptischen Titers auch bei Prozessen vorkommen kann, die nicht zur Kachexie führen. Es ist daher nicht zu verwundern, daß dieser Reaktion von den verschiedensten Seiten nur ganz geringe, von mancher gar keine diagnostische Bedeutung zuerkannt wird.

So zahlreich nun auch die Untersuchungen über die hemmende Kraft genuinen Serums auf das Pankreastrypsin sind, so wenige beschäftigen sich mit der Art und der Natur dieses interessanten Phänomens. Kurt Meyer und O. Schwarz haben hauptsächlich hierfür experimentelles Material beigebracht.

Kurt Meyer[2]) vertritt den Standpunkt, daß das Antitrypsin ein echter Antikörper sei. Dem Pankreastrypsin und dem proteolytischen Leukocytenzellferment schreibt er bei seiner Entstehung nur eine untergeordnete Rolle zu. Er ist vielmehr geneigt, die Vermehrung proteolytischer Fermente als Antigen anzusehen. Als Ursache der Fermentsteigerung nimmt er Stoffwechselgifte an. In einer längeren Arbeit bekämpft O. Schwarz[3]) diesen Standpunkt K. Meyers. Er hält die Auffassung, wonach das Antitrypsin ein echter Antikörper sei, für nicht gerechtfertigt und leugnet seine Eiweißnatur. Vielmehr glaubt er, aus seinen Versuchen schließen zu können, daß die in Betracht kommenden Körper Lipoide oder vielmehr Lipoideiweißverbindungen seien. Die Hemmung komme zustande durch die Bildung einer Ferment-Antifermentverbindung, in der das Ferment zwar seine neutralisierende Fähigkeit behalte, dagegen seine verdauende Eigenschaft verlöre.

Ein erhöhter Hemmungstiter eines Serums werde durch den vermehrten Gehalt an Lipoiden hervorgerufen, der wiederum eine Folge des gesteigerten Zellzerfalls sei.

---

[1]) Brieger und Trebing, Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 29 und 51.

[2]) K. Meyer, Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 23 und 42.

[3]) O. Schwarz, Wiener klin. Wochenschr. 1909, Nr. 33.

Die Grundlage dieser Anschauung von O. Schwarz bildet eine Mitteilung von Pribram und Pick[1]), wonach ein mit Äther behandeltes Serum seine hemmende Kraft verliert. Diese Tatsache konnten Schwarz und andere bestätigen und Schwarz insofern erweitern, als es ihm gelang, ein solches gewissermaßen inaktiviertes Serum durch Lipoidzusatz wieder zu aktivieren.

Kurt Meyer[2]) konnte bei der Nachprüfung der Ätherlöslichkeit des Antitrypsins dieses nur unvollständig nach der Atherextraktion im Rückstand des Soxlethapparates nachweisen. Er folgert daraus, daß ein Teil der Serumstoffe während der Extraktion unlöslich geworden ist. Mit dem Atherextrakt eine hemmende Wirkung auszuüben, war ihm nicht gelungen. Kawashima[3]) konnte nach der Atherextraktion eines getrockneten Serums keine Änderung der antitryptischen Wirkung feststellen. Bei diesen widersprechenden Angaben schien es nötig, die Versuche nachzuprüfen.

Von den beiden angegebenen Methoden zum Nachweis des Antitrypsins bediente ich mich zu meinen Versuchen ausschließlich der bequemen Groß-Fuldschen Caseinmethode zum Nachweis tryptischer Wirkung, wie sie durch v. Bergmann und Meyer[4]) zur Antitrypsinbestimmung ausgearbeitet ist, mit der Modifikation, daß ich die angewandte Caseinlösung sterilisierte und auf diese Weise längere Zeit verwenden konnte.

Als Lösungsmittel wurden benutzt: wasserfreier Äther, Petroläther und Chloroform. Außer genuinem Serum wurde dialysiertes und dann bei niederen Temperaturen (bis zu 35°) getrocknetes Hammelserum verwandt, außerdem Serumalbumin, das aus Serum in bekannter Weise durch Fällung mit Ammonsulfat gewonnen war. Wie nachgewiesen ist,[5]), [6]) ist das Antitrypsin im Serum bei der Fällung an das Serumalbumin gebunden. Sowohl das getrocknete Serum als auch das Serum-

[1]) Handbuch der Technik der Immunitätsforschung von Kraus-Levaditi, 2.

[2]) K. Meyer, Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 42.

[3]) K. Kawashima, diese Zeitschr. 23, Heft 3 u. 4, 1909.

[4]) v. Bergmann und K. Meyer, Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 37.

[5]) Landsteiner, Centralbl. f. Bakt. 1900.

[6]) S. G. Hedin, Journ. of Physiol. 30. Ref. Biochem. Centralbl. 1904, 119.

albumin wurde in einer der ursprünglichen Serummenge gleich großen Quantität physiologischer Kochsalzlösung gelöst.

Es zeigte sich nun, daß sowohl nach der Extraktion mit den genannten Reagenzien nach mehreren Stunden im Soxhletapparat als auch nach längerem Verweilen im Schüttelapparat die Wirkung auf das Trypsin die gleiche blieb.

Wenn ich die Menge der angewandten 2%igen Serumlösung angebe, die 1,0 ccm der 0,1%igen Trypsinlösung an der Verdauung von 2 ccm der 0,2%igen Caseinlösung hinderte, so ergibt sich:

	1,0 ccm Trypsinlösung wird gehemmt durch		
	Serum	Trockenserum	Serumalbumin
unverändertes	1,3	1,4	1,4
mit Äther extrahiertes	1,3	1,4	1,4
mit Äther geschütteltes . . .	1,3	1,5	1,4
mit Petroläther extrahiertes .	1,3	1,4	1,4
mit Petroläther geschütteltes .	1,3	1,4	1,4
mit Chloroform geschütteltes .	1,4	1,5	1,5

Aus den angegebenen Zahlenwerten ist zu ersehen, daß die Behandlung mit lipoidlöslichen Stoffen auf die hemmende Kraft der untersuchten Lösungen keinen Einfluß hatte. Um zu sehen, ob bei größeren Mengen Material in die Extraktionsflüssigkeiten hemmende Körper übergingen, wurden große Mengen Hammelserum extrahiert bzw. geschüttelt. Es konnte aber mit den so gewonnenen Rückständen niemals eine hemmende Wirkung erzielt werden.

Wenn es auch so wahrscheinlich war, daß das Antitrypsin keinen Lipoidcharakter hatte, so wurden doch noch verschiedene Versuche angeschlossen. O. Schwarz[1]) war es gelungen, ein mit Äther behandeltes — der Hemmungskraft verlustig gegangenes — Serum durch Lipoidzusatz wieder gewissermaßen zu aktivieren. Ein solches Serum zeigte aber, worauf K. Meyer[2]) aufmerksam macht, ein ganz anderes Verhalten wie ein Normalserum.

Ich ließ genuines Hammelserum und in Wasser gelöstes Serumpulver einerseits, andrerseits zwei andere Proben, die längere Zeit bei 65° gehalten waren, mehrere Stunden im

[1]) O. Schwarz, l. c.

[2]) K. Meyer, Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 42.

Schüttelapparat mit Olivenöl gehen, nachdem ich mich überzeugt hatte, daß Schütteln an und für sich noch keinen Einfluß auf die Hemmungskraft hatte.

	1,0 ccm Trypsin wird gehemmt durch		
	mit Öl behandeltes Serum	mit Öl behandeltes Serumpulver	Vor der Behandlung
normales	0,8	0,9—1,0	1,1
inaktiviertes . . .	2,0	2,2	2,8

In der Tat wurde also durch die Behandlung mit Olivenöl die antitryptische Kraft des Serums gesteigert. Es gelang aber nicht, durch weiteres Schütteln mit Öl eine noch höhere antitryptische Wirkung zu erzielen. Daß aber diese Zunahme der hemmenden Wirkung verschieden war von der eigentlichen antitryptischen Kraft des Serums, konnte bald erwiesen werden. Während bei einer Erhitzung auf 65° das antitryptische Vermögen verloren geht, konnte ein solches Lipoidserumgemisch auch bei einer noch so langen Erwärmung auf 65° nicht seines ganzen antifermentativen Vermögens beraubt werden. Extrahierte ich dagegen das Serum mit Äther, so hatte dasselbe eine ebenso große antitryptische Kraft wie vor der Behandlung mit Olivenöl. In ähnlicher Weise haben S. G. Hedin[1]) für Knochenkohle und Neumann[2]) für Seifenlösungen und alkoholische Lecithinlösung eine Erhöhung des antitryptischen Titers nachgewiesen.

O. Schwarz gibt an, daß er in mehreren Fällen mit der Steigerung des antitryptischen Titers eine Vermehrung der ätherlöslichen Substanzen feststellen konnte. Die Untersuchungen von solchen Fällen, in denen ein erhöhter Lipoidgehalt im Serum vorhanden ist, konnten aber eher ein Gegenteil nachweisen. Im Serum Luetischer findet sich nach Peritz[3]) eine erhebliche Steigerung des Lecithingehaltes. Die Antitrypsinuntersuchungen bei Lues ergaben nun, daß in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle die Antitrypsinmenge vermindert ist. Stümpke[4]) fand den antitryptischen Titer bei 70% seiner Luesfälle herabgesetzt. Bei einer großen Zahl der Fälle, die

[1]) S. G. Hedin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 1907.
[2]) Neumann, Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 46.
[3]) Peritz, Zeitschr. f. experim. Pathol. 5, 1908.
[4]) Med. Klinik 1910, Nr. 6.

einen erhöhten Antitrypsintiter zeigten, konnte er nachweisen, daß neben der Lues solche Zustände vorlagen, die auch sonst einen vermehrten Antifermentgehalt aufwiesen, wie z. B. Tuberkulose und Gravidität. Auch bei meinen Untersuchungen in 72 Fällen von positiver Wassermannscher Reaktion erhielt ich bei 58% der Fälle eine verminderte Antitrypsinmenge, während nur 8% erhöhten Index zeigten, die übrigen waren normal.

Ebenso war es K. Meyer nicht gelungen, bei der Verdauungslipämie irgendwelche Änderungen des Antitrypsingehaltes festzustellen.

Ich versuchte dann noch bei Tieren durch langandauernde Narkosen, bei denen sich ein vermehrter Lipoidgehalt im Blutplasma findet, die Lipoidmenge zu steigern. Hierbei werden durch die Schädigung der Zellen Lipoidstoffe abgespalten, die dann in das Blut gelangen. Die Experimente wurden an Kaninchen angestellt, die mehrere Stunden in Narkose gehalten wurden. Bei diesen und den folgenden Versuchen wurde fast ausschließlich Blut, das mit Fluornatrium behandelt war, in Arbeit genommen, nachdem ich durch zahlreiche Kontrollen festgestellt hatte, daß der Zusatz von Fluornatrium keinen Einfluß auf die Antitrypsinmenge hatte.

1,0 ccm Trypsinlösung wird gehemmt durch	Vor Narkose	Nach 5stündiger Narkose	Ante Exitum
Chloroform	1,5	1,5	1,5
Äther	1,3	1,3	1,3
Äther	1,2	1,2	1,2
Aceton	1,2	1,2	1,2
Morphium subcutan . . .	1,5	1,5	1,5
Strychnin, subcutan . . .	1,3	1,3	1,3

Aus den Daten ergibt sich, daß die angewandten Narkotica und Alkaloide keinen Einfluß auf den antitryptischen Titer des Serums hatten. Hinzufügen kann ich noch, daß auch subcutan einverleibtes Cholesterin und Eidotter in mehreren Versuchen unwirksam befunden wurde.

Durch diese Tatsachen war es wahrscheinlich gemacht, daß an dem Zustandekommen der Antitrypsinreaktion die Lipoide des Serums keine Bedeutung haben konnten. Die Hypothese von O. Schwarz ließ sich durch keine Experimente stützen. Es galt daher für die Theorie K. Meyers, nach der das Antitrypsin ein echter Antikörper ist, weiteres Material beizubringen.

Als Ursache für einen gesteigerten Antitrypsingehalt wird von Braunstein[1]) und Meyer[2]) als Antigen eine Vermehrung proteolytischer Zellfermente angenommen. Dagegen schreibt K. Meyer dabei dem Pankreassekret keine wesentliche Bedeutung bei. Während sich also die Arbeiten nur mit dem gesteigerten Antifermentgehalt beschäftigen, liegen noch keine Äußerungen über die Herkunft des normalerweise vorhandenen Antitrypsins vor.

Bei hungernden Kaninchen und Hunden, in einer Zeit also, in der nur ganz geringe Mengen Pankreassekret abgesondert wurden, findet nach meinen Untersuchungen in den ersten 5 bis 6 Tagen keine Veränderung des Antitrypsingehaltes statt. Fürst[3]) konnte dagegen bei hungernden Meerschweinchen mit der Abnahme des Körpergewichtes eine Zunahme des Antitrypsintiters nachweisen. Auch beim Menschen, speziell beim Säugling, konnte ich bei 48stündiger Hungerdiät in mehreren Fällen keine Verschiebung erkennen. Dagegen zeigten sich bei Menschen, die Nahrung zu sich nahmen, gewisse physiologische Schwankungen, die offenbar mit dieser Nahrungsaufnahme im Zusammenhange standen. Ich prüfte diese Frage an verschiedenen Kindern, die äußerer Erscheinungen wegen ins Krankenhaus gekommen waren. Aus einer größeren Zahl seien einige hier mitgeteilt. Die Kinder erhielten vormittags eine große Mahlzeit. Nach einigen orientierenden Versuchen ergab sich als das zweckmäßigste, nach 5 und 8 Stunden Blut zu entnehmen.

1,0 ccm Trypsinlösung wurde gehemmt durch	Vor der Mahlzeit	5 Stunden nach der Mahlzeit	8 Stunden nach der Mahlzeit	10 Stunden nach der Mahlzeit
Ekzem	1,2	1,0	0,9	1,1
Drüsentuberkulose	1,4	1,2	1,2	1,4
Ekzem	1,4	1,3	1,2	1,4
Gonorrhoe	1,3	1,2	1,0	1,2
Exsudative Diathese	1,4	1,4	1,2	1,2
Gonorrhoe	1,3	1,0	1,0	1,2
Impetigo cont. . .	1,4	1,3	1,1	1,4
Ekzem	1,2	1,2	1,0	1,2

[1]) Braunstein, Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 13. — Berl. klin. Wochenschr. 1910, Nr. 11.

[2]) Meyer, l. c.

[3]) Fürst, Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 2.

Es ergibt sich also mehrere Stunden nach der Nahrungsaufnahme ein Ansteigen der Werte, nach ca. 8 Stunden der Höhepunkt, der nach 10 Stunden wieder einem Fallen Platz macht. Eine Anzahl von Kindern zeigte absolut keine Veränderung, auch bei öfteren Untersuchungen. Dagegen konnte ich durch Steigerung der Pankreasabsonderung nach reichlicher Zugabe von Salzsäure zur Mahlzeit sowohl bei diesen Kindern ein Ansteigen der Antifermentwerte erreichen, als auch bei den in der Tabelle angegebenen noch höhere Zahlen erzielen.

Es fragte sich nun, ob durch Ausschaltung des Pankreas sich die Reaktion beeinflussen ließ. Von verschiedenen Autoren war bei einigen Fällen von Diabetes mellitus und Gallen- und Pankreasgangverschluß eine Antitrypsinverminderung gefunden worden. Es ist wohl nicht zu weit gegangen, wenn man annimmt, daß diese Verminderung in Beziehung zu einer verminderten Resorption von Trypsin infolge einer Funktionsuntüchtigkeit des Pankreas steht. Einer weiteren Prüfung dieser Frage durch Experimente an Tieren, denen das Pankreas ganz entfernt war, stellten sich Schwierigkeiten entgegen, da diese Tiere nur wenige Tage lebten. Es konnte aber bei 2 Hunden, denen das Pankreas exstirpiert war und von denen der eine 2, der andere 3 Tage lebte, keine Veränderung in der Antitrypsinmenge festgestellt werden. Desgleichen blieben bei 2 Tieren, denen ein künstlicher Ileus durch eine Ligatur unterhalb der Mündung des Pankreasausführungsganges gesetzt wurde, die Antitrypsinwerte innerhalb 2 Tagen unverändert.

Es gelang nun, einen Hund mit partieller Pankreasexstirpation längere Zeit am Leben zu erhalten. Einem Jagdhunde wurde von Herrn Dr. Möckel das Pankreas bis auf einen kleinen Rest reseziert. Die Hemmung für 1,0 ccm Trypsinlösung betrug vor der Operation 1,4 ccm der 2%igen Serumverdünnung. Nach 2 Tagen war die Hemmung die gleiche, 1,4 ccm. Der Heilungsverlauf war außer einer geringen Eiterung der Hautwunde ein glatter. Das Tier wurde wieder ganz mobil. Nach 8 Tagen betrug die Hemmung noch immer 1,4 ccm. Nach 14 Tagen war dieser Wert auf 1,9 gefallen, nach weiteren 8 Tagen auf 2,8 ccm. 4 Wochen nach der Operation gebrauchte ich 4,3 ccm der 2%igen Serumverdünnung, um 1,0 ccm Trypsinlösung an der Verdauung von 2 ccm der

Caseinlösung zu hindern. Auf ungefähr derselben Höhe 3,9 bis 4,6 ccm Serumlösung hielt sich der Titer des Tieres ca. 4 Wochen lang. Das Tier magerte unterdessen stark ab, die Faeces verließen zum größten Teil unverdaut den Magendarmkanal. 3 Wochen nach der Operation traten die ersten Zuckermengen im Urin auf. Diese Glykosurie steigerte sich bis zum Exitus des Tieres, bei dem der Hund eine Zuckermenge von ca. 10% ausschied.

2 Monate nach der Exstirpation, als der antitryptische Titer sich ziemlich konstant in sehr niedrigen Zahlen 3,9 bis 4,6 bewegte, wurde das Tier 3 Tage lang mit Trypsinpräparaten gefüttert. Es nahm ca. 200 g der verschiedensten Pankreaspräparate in dünner Sodalösung gelöst. Während am selben Abend die Antitrypsinmenge im Serum des Hundes unverändert war, war sie schon am nächsten Tage stark gestiegen. Man brauchte nur noch 2,4 ccm Serumlösung, um 1,0 ccm Trypsinlösung an der Verdauung zu hindern, am nächsten Tage nur noch 1,8, am folgenden 1,3 ccm weniger also, wie vor der Exstirpation, obwohl die letzte Trypsindarreichung 24 Stunden zurücklag. Nach Weglassen der Präparate hielt sich die Hemmungskraft des Serums auf ungefähr derselben Höhe, 1,3 bis 1,6 ccm, um nach ca. 1 Woche wieder stark zu fallen. Allerdings wurden nicht dieselben niedrigen Zahlen erreicht wie vor der Verfütterung mit Trypsinpräparaten, eine Erscheinung, die sich wohl dadurch erklären läßt, daß das Tier nur noch ca. 3 Wochen lebte. Unter zunehmender Abmagerung und Ansteigen des Harnzuckers bis auf 10% erfolgte der Exitus. Bei der Sektion zeigte sich, daß der zurückgelassene Rest des Pankreas nicht mehr vorhanden war. 3 Tage vor dem Exitus war die kleinste 1,0 Trypsinlösung an der Verdauung hemmenden Serumlösung 2,7 ccm.

Die Versuche an den pankreasexstirpierten Tieren lehren, daß das Serum in der ersten Zeit die volle antitryptische Wirksamkeit behält, daß aber der Körper nach und nach diese Fähigkeit verliert. Gleichzeitig deuten sie darauf hin, daß das Antitrypsin in Beziehung zum Trypsin des Pankreas steht: Sinken des Antitrypsingehaltes geraume Zeit nach der Pankreasexstirpation, Steigen desselben nach Trypsinverfütterung und wiederum Sinken nach Weglassen der Präparate.

Es wurden dann noch einzelne Versuche angeschlossen, die weitere Beiträge zur Frage des Zusammenhanges zwischen

vermehrtem Eiweiß- und Zellzerfall und vermehrter Antitrypsinbildung bringen sollten. Verschiedenen Autoren war es auf experimentellem Wege gelungen, eine erhebliche Steigerung der antitryptischen Serumwirkung zu erzeugen. Verfütterung und subcutane Einverleibung von Pankreaspräparaten und Schilddrüsensubstanz, ferner Darreichung von Phosphor sollten den antitryptischen Index des Serums erhöhen. Letzteren Befund konnte K. Meyer bei einer Nachprüfung nicht bestätigen.

Bei verschiedenen Hunden, denen zu anderen Zwecken das Pankreas exstirpiert war und die gleichzeitig Phosphor subcutan erhielten, wurde das Antitrypsin bestimmt, anderen wurde gleichzeitig Phosphor 0,01 bis 0,05 und Phlorizin 1,0 pro die gegeben. Die Tiere lebten nur einige Tage, sie hatten sämtlich Glykosurie. Das Antitrypsin wurde täglich bestimmt, in der Tabelle sind nur die Werte vom ersten Tag und vor dem Exitus angegeben, weil in der Zwischenzeit keine Änderung eintrat.

	Vor dem Versuch	Tag nach Pankreasexstirpation + P.	Tag nach Phosphor u. Phlorizindarreichung	Vor dem Exitus
Hund lebt 2 Tage	1,4	1,4		1,4
„ „ 4 „	1,6	1,6		1,7
„ „ 4 „	1,4		1,4	1,4
„ „ 3 „	1,3		1,3	1,2
„ „ 4 „	1,6	1,6		1,6
„ „ 6 „	1,0		1,0	1,1
„ „ 10 „	1,4		1,4	1,4

Bei den 4 letzten Tieren wurde gleichzeitig der Stickstoff im Harn bestimmt. Die Tiere hungerten während der ganzen Zeit. Es zeigte sich eine ganz bedeutende Steigerung der Stickstoffausfuhr während der Versuchsdauer. Trotzdem blieb die antitryptische Kraft des Serums unverändert.

Wenn wir im ersten Teil gesehen haben, daß sich keine Stützen für die Hypothese von O. Schwarz, daß die die Proteolyse hemmenden Körper des Serums, Lipoide oder Lipoideiweißkörper seien, finden ließen, so glaube ich, im zweiten Teile Beweise dafür erbracht zu haben, daß das Trypsin des Pankreas für den normalen Antitrypsingehalt des Serums eine große Bedeutung hat.

Die befremdende Tatsache, daß der Organismus gegen körpereigene Substanzen mit der Bildung von Antikörpern

antwortet, steht nicht mehr vereinzelt da. K. Meyer macht darauf aufmerksam, daß es Adler[1]) gelungen ist zu zeigen, daß Meerschweinchen gegen ihre eigenen Spermatozoen spezifische Spermotoxine bilden. Ein zweites Beispiel bietet die paroxysmale Hämoglobinurie, bei der nach Donath und Landsteiner[2]) und Meyer und Emmrich[3]) ein Hämolysin vorhanden ist, das die eigenen Blutkörperchen lösen kann.

Auch das zeitige Auftreten der Reaktion, nach unseren Untersuchungen bei der Verdauung schon nach 5 Stunden, hat sein Analogon in der Beobachtung von Gaehtgens[4]), der schon innerhalb der ersten 24 Stunden nach Einspritzen von Typhusbacillen bei Kaninchen die Bildung von Präcipitinen nachweisen konnte.

Daß bei dem Zustandekommen der antiproteolytischen Fähigkeiten des Serums das Trypsin nur einer von wahrscheinlich vielen Faktoren ist, erkennen wir daraus, daß der Antitrypsingehalt des pankreasexstirpierten Hundes nicht gleich 0 wurde, sondern sich eine ganze Zeit auf einer ziemlich konstanten Höhe hielt. Sowohl die proteolytischen Fermente der Körperzellen als auch diejenigen der Leukocyten werden wohl hauptsächlich noch dabei in Betracht kommen. Für das Antileukocytenferment haben sogar Jochmann und Kantorowicz[5]) die Identität mit dem Antitrypsinferment nachgewiesen.

Man kann sich vielleicht den ganzen Vorgang so denken: Beim Menschen, bei dem die Absonderung des Pankreas kontinuierlich erfolgt, wird ein Teil des Trypsins fortwährend resorbiert. Diese Trypsinmenge gibt den Reiz für die Zellen ab, die mit einer bestimmten Menge Antitrypsin darauf reagieren. Tritt nun, wie z. B. zur Zeit der Verdauung, eine größere Sekretion und damit auch eine größere Resorption von Trypsin ein, so werden die Organzellen auf den gesteigerten Reiz auch mit einer erhöhten Menge von Antikörpern antworten.

[1]) Adler, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 3, 1909.
[2]) Donath u. Landsteiner, Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 36.
[3]) Meyer und Emmerich, Arch. f. klin. Med. 96, 1909.
[4]) Gaehtgens, Centralbl. f. Bakt. 48, Heft 2.
[5]) Jochmann und Kantorowicz, Zeitschr. f. klin. Med. 66, 1908.

Über den nicht koagulablen Stickstoff des Serums von normalen Menschen, von Geschwulstkranken und Syphilitikern.

Von

M. Takemura.

(Aus der biologisch-chemischen Abteilung des Instituts für Krebsforschung in Heidelberg.)

(Eingegangen am 6. April 1910.)

Die Anschauung, daß in malignen Geweben besondere heterolytische Fermente sich befinden, die den benignen fehlen, konnte nicht bestätigt werden. Heß und Saxel[1]) sowie Kepinow[2]) fanden, daß operativ entfernte, nicht infizierte Tumoren die Autolyse normaler Gewebe nicht verstärken. In den Fällen aber, bei denen eine leichte Zunahme des nicht koagulablen Stickstoffs bei der Autolyse bei Zusatz von Tumorgewebe gefunden wurde,[3]) ist es recht wahrscheinlich, daß Bakterien- oder Leukocytenfermente diese Wirkung ausgeübt haben. Müller[4]), der eine große Anzahl maligner Geschwülste auf proteolytische Eigenschaft mit der Löfflerplatte prüfte, fand dementsprechend nur dann Auflösung des Eiweißes, wenn in dem Krebs- oder Sarkomgewebe sekundäre entzündliche Vorgänge stattgefunden hatten.

Vergleichende quantitative Untersuchungen über den Gehalt der Sera der Krebskranken an Spaltungsprodukten des Eiweißes liegen noch nicht vor. Ich habe daher auf Veranlassung von Prof. v. Dungern einige Versuche nach dieser Richtung hin vorgenommen. Es war ja immerhin möglich, daß aus irgendwelchen Gründen diagnostisch verwertbare Unterschiede sich zeigen konnten.

---

[1]) Beiträge zur Carcinomforschung von Salomon. 1909.

[2]) Zeitschr. f. Krebsforschung 7, 1909.

[3]) Siehe F. Blumenthal, E. Jacoby und C. Neuberg, Medizin. Klinik 1909.

[4]) Arch. f. inn. Med. 1909.

Ich untersuchte in einem Teile der Fälle den inkoagulablen Stickstoff sofort nach der Serumgewinnung, in einem anderen nachdem das Serum ohne irgend einen Zusatz 4 Tage lang im Brutschrank bei 55° gestanden hatte. Das Serum wurde dann mit destilliertem Wasser verdünnt und mit verdünnter Essigsäure bis zur leichten Andeutung der sauren Reaktion versetzt und dann so lange gekocht, bis kein weiterer Niederschlag mehr eintrat. Der Niederschlag wurde abfiltriert und so lange gewaschen, bis die Spülflüssigkeit keinen Niederschlag mit Phosphorwolframsäure mehr gab. Von dem auf 200 ccm aufgefüllten Filtrat wurden immer 40 ccm zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl gebraucht. Um genau vergleichen zu können, untersuchte ich immer ein normales Serum zusammen mit dem eines Carcinomkranken, wobei alle Manipulationen ganz gleichartig vorgenommen wurden. Bei einigen Sera bestimmte ich auch den Gesamtstickstoff.

Die Resultate sind in folgenden Protokollen wiedergegeben.

Tabelle I.

Gesamtstickstoffmenge.

Je 1,0 ccm Serum wurde zur Kjeldahlbestimmung gebraucht.

a) Normalserum.

Erwachsene.		Kinder.	
Proben	N-Menge in 100 ccm Serum g	Proben	N-Menge in 100 ccm Serum g
1.	12,496	1.	9,196
2.	12,145	2.	10,249
3.	12,004	Mittel	9,723
4.	11,092		
Mittel	11,934		

b) Geschwulstkranke.

Proben	Diagnose	N-Menge in 100 ccm Serum g
1.	Becken-Sarkom	10,993
2.	Oberschenkel-Sarkom	12,355
3.	Oberschenkel-Sarkom (nach der Operation)	12,285
4.	Mamma-Carcinom	11,372
5.	„	13,338
6.	„	12,004
7.	Oberkiefer-Carcinom	11,864
8.	Mamma-Carcinom	10,741
9.	Rectum-Carcinom	12,496
	Mittel	11,939

c) Lueskranke.

Proben	N-Menge in 100 ccm Serum g
1.	12,636
2.	11,723
Mittel	12,180

Tabelle II.
Inkoagulabler Stickstoff im normalen Serum.

Proben	N-Menge in 100 ccm Serum. Vor der Autolyse g	Nach der Autolyse g
1.	—	0,527
2.	—	0,470
3.	—	0,477
4.	0,421	—
5.	0,438	—
6.	—	0,491
7.	—	0,527
8.	0,442	—
9.	—	0,562
10.	0,442	0,513
11.	—	0,456
Mittel	0,436	0,503

Tabelle III.
Inkoagulabler Stickstoff im Serum von Carcinomkranken.

Proben	N-Menge in 100 ccm Serum. Vor der Autolyse g	Nach der Autolyse g
1. Mamma-C.	—	0,618
2. „	0,466	0,614
3. „	0,481	—
4. Ohr-C.	—	0,653
5. „	0,527	—
6. „	0,570	0,653
7. Zungen-C.	—	0,527
8. „	0,507	0,562
Mittel	0,510	0,605

In Tabelle II sind Nr. 2, 6 und 7 Kindersera.

Tabelle IV.
Inkoagulabler Stickstoff im Serum von Sarkomkranken.

Proben	N-Menge in 100 ccm Serum. Vor der Autolyse g	Nach der Autolyse g
1. Lippen-S. . . .	—	0,512
2. Achsel-S. . . .	0,395	—
3. Schlüsselbein-S.	0,483	0,512
4. Lippen-S. . . .	—	0,512
Mittel	0,439	0,512

Tabelle V.
Zum Vergleich wurden die Sera von Luetikern und Paralytikern an ihrem inkoagulablen Stickstoffgehalt nach der Autolyse untersucht.

Proben	Diagnose	N-Menge in 100 ccm Serum nach der Autolyse
1.	Paralyse	0,632
2.	Lues	0,507
3.	Paralyse	0,647
4.	„	0,702
5.	Lues	0,463
6.	„	0,456
	Mittel	0,568

Es ergeben sich somit folgende Resultate:

1. Der Gesamtstickstoff ist bei den Geschwulstkranken nicht vermehrt.

2. Der inkoagulable Stickstoff ist bei Carcinomkranken schon vor der Autolyse etwas reichlicher vorhanden als bei den Normalen. Bei den Sarkomkranken ist die Menge die gleiche wie bei den Gesunden.

3. Durch die Autolyse tritt überall eine leichte Vermehrung ein, die ungefähr 20% beträgt. Die Sera der Carcinomkranken zeigen auch hier etwas größere Zahlen als die der Normalen und der Sarkomkranken. Die Sera von 3 Syphilitikern mit positiver Wassermannscher Reaktion zeigen normalen Gehalt. Die Sera von 3 Paralytikern besitzen noch mehr inkoagulablen Stickstoff als die der Krebskranken.

Über Phosphorgehalt der Sera bei Gesunden, Syphilitikern und Carcinomkranken.

Von

M. Takemura.

(Aus der biologisch-chemischen Abteilung des Instituts für Krebsforschung in Heidelberg.)

(Eingegangen am 6. April 1910.)

Man hat den Lecithingehalt des Serums mit dem Ausfall der Wassermannschen Reaktion in Zusammenhang bringen wollen. Ich habe nach dieser Richtung auch einige Versuche vorgenommen. Da eine genaue Bestimmung des Lecithingehalts sich nur dann lohnen kann, wenn größere Unterschiede zu verzeichnen sind, habe ich zunächst nur den Gesamtphosphor festgestellt, und dabei gleichzeitig die Sera der Carcinomatösen mit berücksichtigt. Die Bestimmung geschah nach Neumann auf nassem Wege. Die Ergebnisse waren folgende:

Gesamtphosphorgehalt in normalen Sera.		Gesamtphosphorgehalt in Krankensera. (Wassermanns Reaktion negativ.)		Gesamtphosphorgehalt in Krankensera. (Wassermanns Reaktion positiv.)	
Nr.	P_2O_5-Menge in 10 ccm Serum mg	Nr.	P_2O_5-Menge in 10 ccm Serum mg	Nr.	P_2O_5-Menge in 10 ccm Serum mg
1	3,29	1	3,80	1	3,74
2	3,59	2	4,24	2	3,61
3	3,23	3	4,42	3	4,94
4	3,36	4	3,29	4	3,72
5	3,68	5	3,48	5	3,80
6	3,80	6	3,40	6	4,09
7	3,80	7	3,67	7	4,12
8	3,93	8	3,99		
9	4,24	9	4,75		
10	3,10	10	3,93		
11	3,68	11	3,10		
		12	3,56		
Mittelzahl 3,61 mg		Mittelzahl 3,96 mg		Mittelzahl 4,0 mg	

Gesamtphosphorgehalt in Krankensera. (Wassermanns Reaktion zweifelhaft.)

Nr.	P_2O_5-Menge in 10 ccm Serum mg
1	3,17
2	4,01
3	4,31
4	3,80
5	3,14
	Mittelzahl 3,68 mg

Carcinome.

Nr.	P_2O_5-Menge in 10 ccm Serum mg
1	3,55
2	4,50
3	4,63
4	3,93
5	3,36
	Mittelzahl 3,98 mg

Es ist aus den Tabellen zu ersehen, daß geringe Unterschiede zu verzeichnen sind. Die Sera, die positive Wassermannsche Reaktion geben, enthalten im Mittel etwas mehr Phosphor als die normalen. Die Sera der Carcinomkranken verhalten sich wie die der Syphilitiker. Die Schwankungen sind aber geringer als die individuellen Unterschiede.

Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide.

X. Mitteilung.

Die Einwirkung von organischen Basen und amphoteren Elektrolyten auf Eiweiß.

Von

Hans Handovsky.

(Aus der physikalisch-chemischen Abteilung der Biologischen Versuchsanstalt in Wien.)

(Eingegangen am 6. April 1910.)

Mit 3 Figuren im Text.

In einer Reihe von Arbeiten aus unserem Institute[1]) konnte dargetan werden, daß die Zustandsänderungen von Eiweiß im wesentlichen dadurch bestimmt sind, ob dasselbe als Ion oder als ungeladenes neutrales Partikel vorkommt. Die Untersuchungen am Säure- und am Alkalieiweiß haben ferner ergeben, daß sich das Eiweiß in bezug auf seine Viscosität, sein Verhalten zur Hitze- und Alkoholgerinnung als Kation analog verhält wie als Anion. Bei dem Säureeiweiß ging aus den Bestimmungen seiner inneren Reibung, elektrischen Leitfähigkeit und seiner Stabilität gegen dehydrierende Agenzien hervor, daß das jeweilige Verhältnis der Eiweißionen zu den neutralen Proteinteilen bei den verschiedenen Säuren keineswegs in einer einfachen Abhängigkeit von deren Dissoziationskonstanten steht, sondern daß hier spezifische, elektrochemisch derzeit nicht vorauszusehende Beziehungen obwalten. Mit Rücksicht auf diesen besondern Befund unternahm ich es auf Anregung von Herrn

[1]) Pauli und Handovsky, diese Zeitschr. 18, 340, 1909; 24, 239, 1910.

Prof. Pauli, auch die Untersuchungen am Alkalieiweiß auf eine größere Reihe von Basen auszudehnen und das bei ihrer Kombination mit Eiweiß sich ergebende Verhältnis von Eiweißionen zu Neutralteilen festzustellen. Bei dem Vorkommen von basischen Stoffwechselprodukten und der eminenten physiologischen Wirksamkeit vieler organischer Basen und ihrer Salze ließ diese Untersuchung auch in biologischer Hinsicht einige Aufklärung erhoffen.

Unter den Methoden zur Feststellung der Ionisation des Eiweißes bot sich als bestbewährte und einfachste die Bestimmung der inneren Reibung dar, deren relative Erhöhung als ein brauchbares annäherndes Maß für das Verhältnis von Eiweißionen und -neutralteilen gelten kann. Diese Verwendung gilt zunächst für den Fall, daß nur Eiweißionen derselben Art miteinander verglichen werden, bei denen für nicht zu hohen Säure- oder Alkalizusatz ein einheitlicher Grad der Hydratation vorausgesetzt werden kann. Die Viscositätsbestimmung kann deshalb nur dazu dienen, verschiedene Arten von Alkalieiweiß einerseits oder verschiedene Arten von Säureeiweiß andererseits untereinander zu vergleichen, nicht aber Säure- und Alkalieiweiß miteinander in Beziehung zu bringen, da nach früheren Arbeiten (Pauli und Handovsky) Eiweiß als Kation und als Anion in verschiedenem Grade hydratisiert sein dürfte. Aber auch in dem Falle, wo mit Hilfe der Reibung nur elektro-positives oder -negatives Eiweiß untersucht wird, ist der Umstand zu berücksichtigen, daß verschiedene neutrale Eiweißarten die Viscosität in wechselndem Maße beeinflussen. In einer Lösung von Alkali- oder Säureeiweiß sind zumindest zwei Typen von elektrisch neutralem Eiweiß vorhanden: durch hydrolytische Dissoziation gebildetes natives Eiweiß — die elektrisch neutrale Aminosäure — und elektrisch neutrale Eiweißsalzteilchen, die neben den Eiweißionen mit zunehmender Laugen- oder Säurekonzentration in wachsender Menge entstehen. Diese zwei Arten von elektrisch neutralem Eiweiß haben, wie aus dem verschiedenen Gange,[1]) z. B. des aufsteigenden und absteigenden Schenkels

[1]) Dem aufsteigenden Kurventeil entspricht ein abnehmender Gehalt an hydrolytisch dissoziiertem Eiweiß, dem absteigenden ein zunehmender an elektrisch neutralen Eiweißsalzteilchen. (Vgl. Pauli und Handovsky, diese Zeitschr. 18, 340, 1909.

der Viscositätskurve des Salzsäureeiweißes, hervorgeht, wahrscheinlich eine verschiedene innere Reibung, und ihr wechselndes Verhältnis wird neben der Eiweißionenzahl die innere Reibung mitbestimmen. Nur weil die Wirkung der Eiweißionen auf den Wert der Viscosität in bedeutendem Maße überwiegt über den Einfluß der Unterschiede in den Neutralteilchen, wird die Bestimmung des Reibungskoeffizienten in erster Reihe zum Maße für die Relation von Eiweißionen zu sämtlichen vorhandenen Neutralteilchen. Unter diesem Gesichtspunkte können die folgenden Versuche über den Einfluß verschiedener Basen auf die Eiweißreibung verglichen werden.

Für die Untersuchung kamen verschiedene dialysierte Rindersera (RS. A und RS. B) zur Verwendung. Die Versuchstemperatur war 25° C. Die Wasserwerte (t_0) der Viscosimeter lagen nie unter 580 $\frac{\text{sec.}}{5}$.

Mit Rücksicht auf die geringen Dichteunterschiede wurden nur die $\frac{t}{t_0}$-Werte (t = Durchströmungszeit der Lösungen) ermittelt.[1]) Das Serum wurde stets zur Hälfte mit der Lösung verdünnt. In den Tabellen ist die Endkonzentration nach der Mischung angegeben. Die mit einer Asteristik versehenen Werte sind interpoliert.

Tabelle I.

Die Einwirkung verschiedener Basen auf Eiweiß.

RS. A: 5 Wochen gegen dest. fließendes Wasser dialysiert; Stickstoffgehalt: 0,448%;

Eiweißgehalt: 2,79%; $\frac{t}{t_0} = 1097$; $\lambda = 0{,}0001323$.

Base und ihre Dissoziationskonstante	Norm. der Base	A. $\frac{t}{t_0}$ der Base in wässeriger Lösung	$\frac{t}{t_0}$ der Basen-Rinderserummischung B. berechnet[2])	C. beobachtet	D. $\frac{100}{B} \cdot \frac{C-B}{B}$ %	Anmerkung
NaOH	0,01	1001	1098	1177	+ 7,8	Vgl. auch Tab. III.
	0,02	1002	1099	1260	+15,1	Betr. der Einwirkung von 0,03 NaOH vgl. Tab. IV.
	0,03	1003	1100	1352	+19,5	

[1]) In allen folgenden Tabellen sind die $\frac{t}{t_0}$-Werte mit 1000 multipliziert.

[2]) Die B-Werte wurden so berechnet, daß zur Viscosität des halbverdünnten Serums die Erhöhung der Reibung des Wassers durch die reine Base addiert wurde; so konnte die Verschiedenheit der inneren Reibung der wässerigen Basenlösung für die Berechnung der Reibungserhöhung des Serums berücksichtigt werden.

Tabelle I (Fortsetzung.)

Base und ihre Dissoziationskonstante	Norm. der Base	A. $\frac{t}{t_0}$ der Base in wässeriger Lösung	$\frac{t}{t_0}$ der Basen-Rinderserummischung B. berechnet	C. beobachtet	D. $\frac{100}{B} \cdot (C-B)$ %	Anmerkung
Tetraäthylammoniumhydroxyd	0,0115	1007	1106	1234	+11,57	
	0,0345	1029	1120	1368	+22,1	
	0,0575	1036	1133	1394	+23,04	
Piperidin	0,01	1006*	1103	1161	+ 5,3	Vgl. auch Tab. III.
$K = 1{,}58 \cdot 10^{-3}$ [1]	0,03	1019*	1116	1238	+10,9	Betr. der Einwirkung von 0,1 n Piperidin vgl. Tab. IV.
	0,05	1032	1129	1300	+15,1	
	0,1	1072	1169	1413	+20,9	
Diäthylamin	0,01	1006*	1103	1160	+ 5,2	Vgl. auch Tab. III.
$K = 1{,}26 \cdot 10^{-3}$ [1]	0,03	1018*	1115	1228	+10,3	Betr. der Einwirkung von 0,05 n vgl. Tab. IV.
	0,05	1029	1126	1287	+14,6	
Methylamin	0,01	1003*	1100	1146	+4,0	
$K = 5 \cdot 10^{-4}$ [1]	0,05	1015	1112	1207	+7,6	
Äthylamin	0,005	1002*	1099	1128	+2,7	
$K = 5{,}6 \cdot 10^{-4}$ [1]	0,01	1003*	1100	1147	+3,7	
	0,03	1010	1107	1179	+6,5	
	0,05	1017*	1114	1207	+8,3	
Trimethylamin	0,01	1005*	1102	1124	+2,0	
$K = 7{,}4 \cdot 10^{-5}$ [1]	0,03	1015*	1112	1145	+2,8	
	0,05	1025	1122	1159	+3,3	
NH_3	0,01	1001*	1098	1118	+1,9	Vgl. auch Tab. III.
$K = 2{,}3 \cdot 10^{-5}$ [1]	0,02	1001*	1098	1120	+2,1	
	0,03	1002*	1099	1123	+2,3	
	0,04	1003*	1100	1125	+2,6	
	0,05	1004	1101	1128	+2,8	
Nicotin	0,001	1001*	1098	1109	+1,0	
$K = ?$	0,01	1006*	1103	1118	+1,4	
	0,03	1019	1116	1129	+1,2	
	0,05	1032	1129	1140	+1,0	
Pilocarpin	0,01	1006*	1103	1115	+1,1	
$K_1 = 1 \cdot 10^{-7}$ [2]	0,03	1018*	1115	1120	+1 5	
$K_2 = 4{,}2 \cdot 10^{-11}$	0,05	1029	1126	1126	0	
Pyridin	0,01	1003	1100	1102	+0,2	Vgl. auch Tab. III; ferner S. 520.
$K = 2{,}28 \cdot 10^{-9}$ [3]	0,03	1009*	1106	1109	+0,2	
	0,05	1015	1112	1114	+0,2	
Ekgonin	0,01	1005*	1102	1102	0	
$K = ?$	0,03	1014*	1111	1111	0	
	0,05	1023	1120	1120	0	

[1]) Bredig, Zeitschr. f. physikal. Chem. 13, 289, 1904.
[2]) V. H. Veley, Journ. of the Chem. Soc. 95, 1, 1909.
[3]) Walker und Aston, Journ. of the Chem. Soc. 81, 1905.

Aus dem Gange der Reibungskurven (Fig. 1) geht hervor, daß dieselben ein stetiges Ansteigen der Viscosität mit zunehmender Konzentration der Lauge anzeigen, was nach den eingehenden Ausführungen in den letzten Mitteilungen auf die

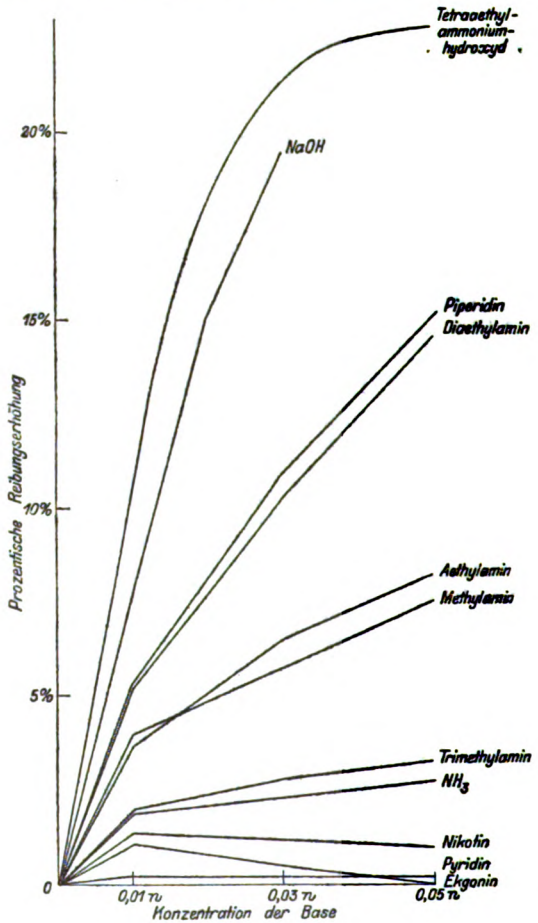


Fig. 1.

fortschreitende Zurückdrängung der hydrolytischen Dissoziation des Eiweißsalzes und die damit verbundene Vermehrung der Eiweißionen bezogen werden muß. Mit abnehmender Stärke der Base nehmen die Kurven einen mehr gegen die Abszisse konkaven Verlauf. Dieses Verhalten entspricht der stärkeren Abnahme der Ionisation schwächerer Basen mit zunehmendem

Gehalte, welche sich in einer geringeren Zurückdrängung der Hydrolyse des Eiweißsalzes äußert. Die Reihenfolge der Kurven nach der Steilheit ihres Anstieges entspricht vollständig der Ordnung der Dissoziationskonstanten der Basen. Zum Unterschiede von den Säuren gilt also hier die einfache Konsequenz der Hydrolysengleichung, daß mit abnehmender Dissoziationskonstante der Base die Hydrolyse des Eiweißsalzes wächst und dementsprechend die in der prozentischen Viscositätszunahme zum Ausdruck kommende Eiweißionenzahl sinkt. Das Verhalten der letzten drei Glieder der Reihe Pilocarpin, Pyridin und Ekgonin wird weiter unten besprochen.

Wie weit die Reibungsänderung von Alkalieiweiß einer Bildung von Eiweißionen durch Zurückdrängung der Hydrolyse und wie weit sie der Entstehung elektrisch neutraler Teilchen des Eiweißsalzes entspricht, läßt sich in befriedigender Weise aus der Berechnung des Verhältnisses von prozentischer Reibungserhöhung zur Hydroxylionenkonzentration entnehmen, die in der folgenden Tabelle II wiedergegeben ist.

Für das Äthyl-, Methyl-, Diäthyl-, Trimethylamin sowie für das Piperidin zeigt sich eine genügende Konstanz von $\frac{C}{R}$, d. h. innerhalb der untersuchten Konzentrationen von 0,01 bis 0,05 n erfolgt die Eiweißionbildung proportional dem Hydroxylionengehalt, und zwar entspricht für dieses Serum einer Vermehrung der OH-Ionen um $5{,}7 \cdot 10^{-5}$ n eine Viscositätserhöhung des Laugeneiweißes um $1\,\%$. Die lineare Abhängigkeit der Viscositätserhöhung vom Hydroxylionengehalte spricht dafür, daß für die genannten Basen innerhalb der verwendeten Konzentrationen die Änderung der Eiweißionenzahl im wesentlichen auf eine Zurückdrängung der Hydrolyse des Eiweißsalzes durch die überschüssigen OH-Ionen zurückzuführen ist, wobei eine merkliche Bildung von elektrisch neutralen Eiweißsalzteilchen durch das gemeinsame Kation der Base nicht stattfindet. Unterschiede in den Dissoziationskonstanten der verschiedenen Eiweißsalze dieser Basen müssen gleichfalls ausgeschlossen werden. Anders liegen die Dinge bei NaOH und dem ungefähr gleich starken Tetraäthylammoniumhydroxyd, die untereinander einen ähnlichen Gang der $\frac{C}{R}$-Werte zeigen: Mit wachsender

Tabelle II.

Einwirkung organischer Basen auf das Eiweiß.

Lauge	Norm. $\cdot 10^2$	Konz. von $OH' \cdot 10^{-5} = C$	Reibungserhöhung in % $= R$	$\frac{C}{R}$
NH_3	1	49	19	2,6
	3	82	23	3,6
	5	108	28	3,8
Trimethylamin . .	1	85	20	4,3?
	3	148	28	5,3
	5	196	33	5,9
Äthylamin	1	214	37	5,8
	3	390	65	6,0
	5	465	83	5,6
Methylamin . . .	1	204	40	5,2
	5	442	76	5,8
Diäthylamin . . .	1	308	52	5,9
	3	564	103	5,5
	5	800	146	5,5
Piperidin	1	334	53	6,3
	3	627	109	5,7
	5	825	151	5,5
Tetraäthylammoniumhydroxyd . .	1	922	116	7,9
	3	2718	221	12,3
	5	4490	230	19,5
NaOH	1	960	78	12,3
	2	1900	151	13,2
	3	2805	195	14,4

Konzentration dieser Laugen erhöht sich hier die zur Erzielung der gleichen Reibungsänderung nötige Hydroxylionenmenge. Bei diesen starken Basen wird also mit zunehmender Alkalinität eine im Verhältnis geringere Menge der die Reibung erhöhenden Eiweißionen gebildet. Im Zusammenhange mit den Ergebnissen der früheren Untersuchungen muß hier angenommen werden, daß neben der Erhöhung der Eiweißionenzahl durch Zurückdrängung der Hydrolyse ein entgegenwirkender Vorgang, nämlich die Bildung elektrisch neutraler Teilchen auf Kosten der Eiweißionen durch das gemeinsame Kation der Base und des Eiweißsalzes zur Geltung kommt. Die Verschiedenheiten in den entsprechenden $\frac{C}{R}$-Werten der beiden Basen Natronlauge und Tetraäthylammoniumhydroxyd liegen zwar im Sinne des geringen Stärkeunterschiedes derselben

$$\left(\frac{C}{R}\,NaOH > \frac{C}{R}\,(C_2H_5)_4N \cdot OH\right),$$

allein die Abweichungen sind so groß, daß hier noch Unterschiede in der Tendenz der Eiweißsalze zur Bildung neutraler Teile in Betracht gezogen werden müssen. Ähnliche sehr weitgehende Verschiedenheiten konnten ja auch in der letzten Untersuchung[1]) zwischen den Alkali- und Erdalkalihydroxyden sicher gestellt werden, von denen die letzteren in sehr weitgehendem Maße die Bildung neutraler Eiweißteile befördern.

Die Sonderstellung des NH_3, die einer im Verhältnis zum berechneten Hydroxylionengehalt übermäßigen Bildung von Eiweißionen entspricht, dürfte ihr Substrat in der eigenartigen elektrochemischen Stellung dieser Base unter den Alkalihydroxyden [Abegg und Bodländer][2]) finden.

Die gleiche Gesetzmäßigkeit wie bei den Viscositätsbestimmungen, daß die Zahl der bei Alkalizusatz gebildeten Eiweißionen in erster Reihe von der Dissoziationskonstante der betreffenden Base bestimmt wird, läßt sich auch auf anderem Wege, nämlich mittels der Leitfähigkeitsmessung von Laugeneiweißmischungen erweisen. Je stärker die Base ist, desto größer ist der Anteil der freien Hydroxylionen, der unter Bildung von Eiweißionen verschwindet, und in dem Maße wird die beobachtete Leitfähigkeit (K_2) der Laugen-Eiweißmischung vermindert gegenüber der aus der Summe der Leitfähigkeiten von Base und Eiweiß berechneten (K_1). Über dieses Verhalten belehrt die folgende Tabelle.

Tabelle III.

Leitfähigkeitsbeeinflussung von Basen durch amphoteres Eiweiß.

RS. A: Leitfähigkeit $k = 0{,}0001323$. T. = 25° C.

Base	Leitfähigkeit der Base in wässeriger Lösung	Leitfähigkeit des Alkalieiweißes K_1 (berechnet)	Leitfähigkeit des Alkalieiweißes K_2 (beobachtet)	$(K_1-K_2)\cdot 10^{-5}$	$(K_1-K_2)\times 10^{-5}$ bezogen auf $K_1 = 100$
0,01 n-NaOH . . .	0,0021180	0,0022503	0,0009766	127	56 %
„ n-Piperidin .	0,0006814	0,0008137	0,0005639	25	31 %
„ n-Diäthylamin	0,0006337	0,0007660	0,0005523	21	28 %
„ n-NH_3 . . .	0,0001294	0,0002617	0,0005196	— 26	— 100 %
„ n-Pyridin . .	0,0000295	0,0001618	0,0001617	0,01	0,06 %

[1]) Pauli und Handovsky, diese Zeitschr. 24, 239, 1910.

[2]) Zeitschr. f. anorgan. Chem. 20, 453.

Die Leitfähigkeitsuntersuchung entspricht also vollständig den Erwartungen und zeigt schließlich für das schwache Pyridin konform den Beobachtungen bei der Eiweißreibung, die durch das Pyridin nicht mehr gesteigert wird, daß die Leitfähigkeit der Pyridin-Eiweißmischung sich additiv aus den Leitfähigkeiten der Komponenten ergibt. In diesem Falle findet keine nachweisliche Bildung von Eiweißionen statt. Das inverse Verhalten des Ammoniakeiweißes, bei dem K_2 hoch über K_1 liegt, erklärt sich ungezwungen aus der schon oben betonten Sonderstellung desselben unter den Alkalihydroxyden und aus der großen Wanderungsgeschwindigkeit der NH_4-Ionen ($u = 79$) des Eiweißsalzes, die z. B. das Piperidin ($u = 36$) um mehr als das Doppelte übertrifft. Ähnliche Wahrnehmungen hat bereits Hardy[1]) am NH_4-Globulin gemacht.

Zur Charakterisierung der Laugeneiweißbeziehungen sei noch ein Phänomen erwähnt, das unter gleichen Konzentrationsverhältnissen bei Säuren nicht zu konstatieren ist. Dieses Phänomen ist von Schorr[2]) an unserem Institute bei der Einwirkung von NaOH auf Eiweiß gefunden und näher studiert worden. Für unser Rinderserum wird von 0,025 n-NaOH an die Laugeneiweißreibung merklich unkonstant (in geringerem Maße auch schon in niedrigeren Konzentrationen), indem sie mit der Zeit bis zu einem Maximum ansteigt und dann wieder abfällt. Eine ähnliche zeitliche Zunahme der inneren Reibung ließ sich nun auch bei anderen Basen wiederfinden. Wie die folgende Tabelle zeigt, dürfte der Eintritt dieser Erscheinung des hydrolytischen Eiweißabbaus an eine bestimmte Grenzkonzentration der freien OH-Ionen gebunden sein, die nahe bei $8 \cdot 10^{-3}$ gelegen ist. Mit der Überschreitung dieses Wertes wächst zunächst die abbauende Wirkung. Diese Verhältnisse haben auch für die Kombination mehrerer Alkalien Geltung.

Ein besonderes Interesse bieten noch die Endglieder der in Tabelle I verzeichneten Basen Pilocarpin, Pyridin und Ekgonin in ihren Beziehungen zum Eiweiß. Bis zur Konzentration 0,03 n zeigen auch Pilocarpin und Pyridin ihre den Dissozia-

[1]) Hardy, Journ. of Physiol. 33, 253, 1905.

[2]) Schorr, diese Zeitschr. 18, 173, 1909 (Vorl. Mitteilung). Vgl. Pauli, Akadem. Anzeiger, Sitzung d. mathem. naturw. Klasse vom 17. März 1910.

tionskonstanten entsprechende Wirkung auf die Eiweißreibung; am Ekgonin konnte eine solche überhaupt nicht gefunden werden, am Pyridin ist sie verschwindend gering, am Pilocarpin ist eine geringe anfängliche Erhöhung vorhanden, die bei einer höheren Konzentration (0,05 n) wiederum verschwindet. Im letzteren Falle dürften besondere Verhältnisse in bezug auf die Neutralteilchenbildung vorliegen (s. u.).

Tabelle IV.

Zur abbauenden Wirkung starker Laugen in niedrigen Konzentrationen.

RS. A.

Base	c	OH-Ionengehalt $\times 10^{-5}$	Nach der Mischung vergingen bis zum Beginn des Versuches Minuten										Anmerkung
			0[1]	4	8	12	16	20	24	60	180	900	
Diäthylamin	0,05 n	800	810	811	811	812	813	813	814	816	—	821	Durchströmungszeiten in 1/5 Sekunden $t_{H_2O} = 621$
Piperidin	0,05 n	825	813	813	814	815	815	816	818	822	—	831	
Piperidin	0,1 n	1232	868	871	876	879	884	884	885	888	—	945	
NaOH	0,03 n	2805	861	865	869	872	874	876	879	—	910	1040	
Piperidin + NaOH	0,03 n + 0,01 n	627 + 960	818	818	820	820	824	826	826	832	—	847	
Tetraäthylammoniumhydroxyd	0,03 n	2718	877	882	886	891	894	898	902	920	—	—	
	0,05 n	2805	897	902	907	916	920	928	934	953	—	—	

Mit dieser Neigung der schwächeren Basen zur Bildung von Neutralteilchen, die sich teils durch den Abfall nach einem Maximum der inneren Reibung, teils in höheren Konzentrationen durch Eiweißfällung verrät, bilden diese Basen den Übergang zu der im folgenden Abschnitte behandelten Gruppe von amphoteren Elektrolyten.

II.

Die Reibungsversuche unserer Laugeneiweißmischungen haben gezeigt, daß mit abnehmender Stärke der Basen die Hydrolyse des Eiweißsalzes wächst, um schließlich bei einer Dissoziationskonstante $K = 2{,}28 \cdot 10^{-9}$ (Pyridin) vollständig zu werden. Eine ähnliche Betrachtung wird sich auch für die Verhältnisse bei den Säuren durchführen lassen, bei denen gleichfalls die Abnahme der Säurestärke schließlich die Ent-

[1]) Die Anfangswerte sind interpoliert.

stehung von Eiweißionen ausschließt.[1]) Hier bildet das schwach saure Ekgonin (Tabelle I) das Endglied der Säurereihe, das eine Bildung von elektropositiven Eiweißionen nicht mehr erkennen läßt. Zwischen diese Endglieder ist die Reihe der amphoteren Elektrolyte eingeschaltet, die nicht mehr ausschließlich als Säuren oder als Basen mit dem Eiweiß in Reaktion treten können, da ihre K-Werte unterhalb der des Pyridins und wohl auch des Ekgonins liegen. Bei der Messung der inneren Reibung ihrer Kombinationen mit Eiweiß hat sich dennoch herausgestellt, daß die Körper dieser Art in ganz bestimmte Beziehungen zum Eiweiß treten. Zu den folgenden Versuchen (Tabelle V) wurde ein besonders sorgfältig bei höherer Temperatur dialysiertes Serum verwendet, um Nebenwirkungen durch Elektrolyte auszuschließen.

Zum Vergleiche sind die Resultate mit den schwächsten Säuren und Basen angeführt (s. Tab. V u. Fig. 2).

Zum Unterschiede von den Versuchen bei Laugen und Säuren liegen für die Eiweißmischungen mit den untersuchten Ampholyten die beobachteten Reibungswerte (C) unterhalb der aus der Summe beider Komponenten berechneten (B). Bei der verhältnismäßig hohen Viscosität dieser Ampholyte in wässeriger Lösung (A-Werte) käme zunächst die Möglichkeit in Betracht, daß die Reibungserniedrigung unter den Summenwert der Komponenten ausschließlich der Wegnahme des Ampholyten aus der Lösung durch Bindung an das Eiweiß entspricht. Unter Zugrundelegung dieser Annahme würde jedoch die höchst unwahrscheinliche Folgerung sich ergeben, daß überaus große Anteile des Ampholyten, z. B. bei 0,05 n Coffein eine Menge von 0,03 n, an das Eiweiß gebunden sind. Deshalb erscheint es den Tatsachen entsprechender in der Reibungserniedrigung durch Ampholyte zugleich den Ausdruck für die Bildung von Ampholyt-Eiweißkomplexen mit besonderen physikalisch-chemischen Eigenschaften zu erkennen. Als Bindungsform wäre eine wechselweise Reaktion des amphoteren Eiweißes und des Ampholyten (A) mit ihren sauren und basi-

[1]) Daß eine Reihe von starken Säuren auf einem andern Wege, durch Bildung neutraler Eiweißsalzpartikel, eine Viscositätskurve von ähnlichem Verlaufe wie sehr schwache Säuren zeigt, kann für diese Ausführungen nicht in Betracht kommen.

Tabelle V.

Zur Einwirkung von amphoteren Elektrolyten aufs Eiweiß I.

RS. B: 8 Wochen gegen fließendes destilliertes Wasser, darunter 2 Wochen bei 30° C dialysiert, vollständig frei von Globulin, gerinnt bei 50° C und hat eine spezifische Leitfähigkeit von $K = 0{,}000\,030\,52$.

Stickstoffgehalt: 0,3325%; Eiweißgehalt: 2,0748%.

RS. B: $\frac{t}{t_0} = 1060_4$

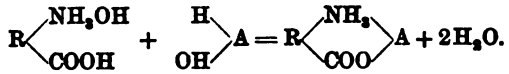
	K_s[1])	K_b	n	$\frac{t}{t_0}$ d. Subst. i. wäss. Lösg.	$\frac{t}{t_0}$ der Rinderserummischung B. berechn.	C. beob.	$\frac{100}{B} \cdot \frac{D.}{C-B}$ %
Asparaginsäure	$1{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}20 \cdot 10^{-12}$	0,01	1005*	1065	1088	+ 2,3
			0,03	1015	1075	1144	+ 6,8
			0,05	1026	1086	1175	+ 8,7
Essigsäure . .	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	—	0,01	1005*	1065	1066	+ 0,1
			0,03	1014*	1074	1085	+ 1,0
			0,05	1023	1083	1103	+ 1,8
Ekgonin . . .	—	—	0,01	1005*	1065	1065	0
			0,03	1014*	1074	1074	0
			0,05	1023	1083	1083	0
Thioharnstoff .	—	$1{,}1 \cdot 10^{-5}$	0,01	1001	1061	1055	− 0,6
			0,03	1001_5	1061_5	1062	0
			0,05	1002	1062	1063	+ 0,1
Kakodylsäure .	$6{,}4 \cdot 10^{-7}$[2])	$3{,}6 \cdot 10^{-13}$	0,01	1003*	1063	1059	− 0,4
		$(5{,}6 \cdot 10^{-13})$[3])	0,03	1008*	1068	1061	− 0,7
			0,05	1013	1073	1073	0
Glykokoll . . .	$1{,}8 \cdot 10^{-10}$	$2{,}7 \cdot 10^{-12}$	0,01	1003*	1063	1059	− 0,4
			0,03	1010*	1070	1060	− 0,9
			0,05	1017	1077	1061	− 1,5
Harnstoff . . .	—	$1{,}5 \cdot 10^{-14}$	0,01	999	1059	1057	− 0,2
			0,05	996	1056	1051	− 0,5
			0,5	1030	1090	1062	− 2,5
Coffein	$< 1 \cdot 10^{-14}$	$1{,}6 \cdot 10^{-14}$	0,1	1005*	1065	1064	− 0,1
			0,3	1014	1074	1067	− 0,7
			0,5	1023	1083	1071	− 1,1
m-Aminobenzoesäure	$1{,}63 \cdot 10^{-5}$	$3{,}6 \cdot 10^{-13}$	0,01	1006*	1066	1057	− 0,8
			0,03	1018*	1078	1058	− 1,9
			0,05	1031	1091	1066	− 2,3
Pyridin . . .	—	$2{,}3 \cdot 10^{-9}$	0,01	1003*	1063	1065	+ 0,2
			0,03	1009*	1069	1073	+ 0,3
			0,05	1015	1075	1078	+ 0,3
NH_3	—	$2{,}3 \cdot 10^{-5}$	0,01	1001*	1061	1081	+ 1,9
			0,03	1002_5*	1062_5	1087	+ 2,4
			0,05	1004	1064	1093	+ 2,7

[1]) K_s = Säuredissoziationskonstante, K_b = Basendissoziationskonstante. Die Autoren, denen diese Werte entnommen sind, sind bei Tabelle VII zitiert.

[2]) Zawidski, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 2289, 1904.

[3]) Holmberg, Zeitschr. f. phys. Chem. 70, 153, 1910.

schen Gruppen unter Entstehung eines cyclischen Komplexes anzunehmen, etwa nach dem folgenden Schema:



In diesem Falle würde die spaltende Wirkung der Hydrolyse des Eiweißsalzes, die sich sonst bei schwächeren Säuren

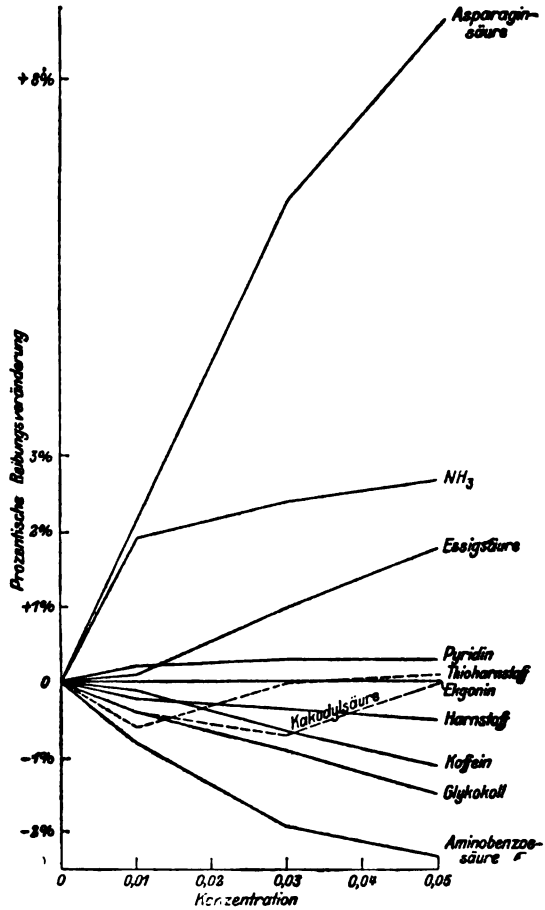


Fig. 2.

und Basen so stark geltend macht, durch die 2fache Bindung mehr oder minder weitgehend paralysiert werden.

In ähnlichem Sinne wie in Tabelle V fiel ein Versuch mit denselben Ampholyten bei einem anderen Serum aus, das neben

einem etwas höheren Elektrolytgehalt einen stärkeren Globulinanteil enthielt. (Siehe die folgende Tabelle.)

Tabelle VI.

Zur Einwirkung amphoterer Elektrolyte aufs Eiweiß II.

RS. A: $\frac{t}{t_0} = 1097$.

	Konzentration	A. $\frac{t}{t_0}$ der Subst. in wässerig. Lösung	$\frac{t}{t_0}$ d. Rinderserum-mischung B. berechnet	C. beobachtet	D. $\frac{100}{B} \cdot \frac{C-B}{B}$	Anmerkung
Pyridin	0,01	1003*	1100	1101	+ 0,1	
$K = 2{,}3 \cdot 10^{-9}$	0,03	1009*	1106	1110	+ 0,3	
	0,05	1015	1112	1116	+ 0,3	
Antipyrin . . .	0,005	1003	1048	1046	− 0,3	RS. C: $\frac{t}{t_0} = 1045$
$K = ?$	0,01	1005	1050	1048	− 0,2	
	0,03	1016	1061	1061	0	
	0,05	1027	1072	1076	+ 0,4	
m-Toluylen-	0,01	1005	1102	1102	0	
diamin	0,03	1014	1111	1108	− 0,1	
$K = ?$	0,05	1024	1122	1115	− 0,6	
Harnstoff[1]) . .	0,01	999	1065	1063	− 0,2	RS. D: $\frac{t}{t_0} = 1066$
$K = 1{,}5 \cdot 10^{-14}$	0,03	997	1063	1062	− 0,1	
	0,04	997	1063	1061	− 0,2	
	0,1	995	1061	1060	0	
	0,3	1013	1079	1066	− 1,0	
	0,5	1030	1096	1073	− 2,1	
Ekgonin . . .	0,01	1005*	1102	1102	0	
$K = ?$	0,03	1014*	1111	1110	0	
	0,05	1023	1120	1120	0	
Coffein	0,012	1006	1103	1102	− 0,1	
$K_b = 1{,}6 \cdot 10^{-14}$	0,036	1018	1115	1108	− 0,6	
$K_a < 1 \cdot 10^{-14}$	0,06	1029	1126	1118	− 0,8	
Glykokoll . . .	0,01	1003	1100	1107	− 0,3	
$K_b = 2{,}66 \cdot 10^{-12}$	0,03	1010	1107	1112	− 0,5	
$K_a = 1{,}8 \cdot 10^{-10}$	0,05	1017	1114	1103	− 1,1	
m-Amidobenzoe-	0,01	1006	1103	1095	− 0,8	
säure	0,03	1018	1115	1095	− 1,8	
$K_b = 1{,}22 \cdot 10^{-11}$	0,05	1031	1128	1101	− 2,4	
$K_a = 1{,}63 \cdot 10^{-5}$						
Kakodylsäure .	0,01	1002	1099	Fällung!	∞	Betreffs dieser
$K_b = 3{,}6 \cdot 10^{-13}$	0,03	1007	1004	Opalescenz		Fällungen vgl.
$K_a = 6{,}4 \cdot 10^{-7}$	0,05	1013	1010	1096	− 0,7	unten

Sieht man von der Sonderstellung der Kakodylsäure, die stark Globulin fällend wirkt, ab, so zeigt sich auch hier die gleiche Anordnung in der Reihenfolge der Ampholyte hinsicht-

[1]) Vgl. Pauli und Handovsky, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 415, 1908.

lich ihrer reibungserniedrigenden Wirkung aufs Eiweiß. In der folgenden Tabelle VII sind die amphoteren Substanzen (zu Vergleichszwecken zwischen Pyridin und Essigsäure eingeschlossen) nach zunehmender Reibungserniedrigung eingeordnet und die entsprechenden Dissoziationskonstanten beigefügt.

Tabelle VII.

Zur Einwirkung der amphoteren Elektrolyte aufs Eiweiß III.

Substanz	K_B	K_S
Pyridin[1])	$2{,}3 \cdot 10^{-9}$	—
Thioharnstoff[2])	$1{,}1 \cdot 10^{-15}$	—
Harnstoff[3])	$1{,}5 \cdot 10^{-14}$	—
Coffein[4])	$1{,}6 \cdot 10^{-14}$	$< 1 \cdot 10^{-14}$
Glykokoll[5])	$2{,}7 \cdot 10^{-12}$	$1{,}8 \cdot 10^{-10}$
Aminobenzoesäure[6]) . . .	$3{,}6 \cdot 10^{-13}$	$1{,}63 \cdot 10^{-5}$
Essigsäure	—	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$
Asparaginsäure[7])	$1{,}2 \cdot 10^{-13}$	$1{,}5 \cdot 10^{-4}$

Aus dieser Zusammmenstellung (vgl. Fig. 2) geht hervor, daß Schwankungen im Werte der Basendissoziationskonstante des Ampholyten zwischen 10^{-13} bis 10^{-15} für dessen Wirkung aufs Eiweiß wenig in Betracht kommen neben Wertunterschieden der Säuredissoziationskonstanten. Mit steigender Säuredissoziationskonstante sinkt unter diesen Verhältnissen die Viscosität bis zur Aminobenzoesäure ($K_S = 1{,}6 \cdot 10^{-5}$). Ein weiterer Anstieg von K_S führt dann wiederum zur Reibungserhöhung durch Bildung positiver Eiweißionen. Sehr deutlich werden diese Beziehungen beim Vergleich von Glykokoll ($K_S = 1{,}8 \cdot 10^{-10}$) und Asparaginsäure ($K_S = 1{,}5 \cdot 10^{-4}$), die bei nahezu gleichem K_B große Unterschiede im K_S-Werte zeigen, dem entsprechend erniedrigt

---

[1]) Walker und Aston, Journ. of the Chem. Soc. 81, 1905.

[2]) Walker, Zeitschr. f. physikal. Chem. 4, 319, 1889 und Walker und Aston, Journ. of Chem. Soc. 67, 576, 1895.

[3]) Walker, Journ. of Chem. Soc. 89, 1903.

[4]) Wood, ibid. 89, 1903.

[5]) Winkelblecch, Zeitschr. f. physikal. Chem. 36, 546, 1905.

[6]) Walker, ibid. 51, 709, 1905.

[7]) Winkelblech, ibid. 36, 546, 1901. — Eine Zusammenstellung der Konstanten amphoterer Elektrolyte findet sich in der sehr verwendbaren Monographie von H. Lunden: Affinitätsmengen an schwachen Säuren und Basen. Samml. chem. u. chem.-techn. Vorträge von Ahrens und Herz 14. Stuttgart 1908.

das erstere und erhöht das letztere die Eiweißreibung. Daß zur Kuppelung der Eiweiß-Ampholytverbindungen selbst bei stärkerem Säurecharakter des Ampholyten das Vorhandensein einer basischen Valenz wesentlich ist, zeigt die Gegenüberstellung von Aminobenzoe- und Essigsäure, die bei ungefähr gleichem K_S sich in bezug auf Eiweiß gegensätzlich verhalten. Denn bei ersterer genügt ein $K_B = 3{,}6 \cdot 10^{-13}$ zur starken Reibungserniedrigung, während die letztere bereits die Eiweißviscosität steigert.

Zur Herstellung cyclischer Neutralteile mit Eiweiß bilden somit geringe Basendissoziationskonstanten neben höheren Säuredissoziationskonstanten der Ampholyte die günstigste Bedingung. Dies wird leicht verständlich bei Betrachtung der K_B- und K_S-Werte von Eiweiß, deren Schätzung nach diesen Versuchen möglich ist. Daß für das Eiweiß $K_S > K_B$ gilt, geht nicht nur aus der Analogie mit anderen Monoaminosäuren, sondern auch aus seinem elektrischen Verhalten [Landsteiner und Pauli[1]), Michaelis[2]), Botazzi[3])] mit Sicherheit hervor. Für das Globulin haben Hardy[4]) und Robertson[5]) auf diesen Unterschied der Dissoziationskonstanten hingewiesen.

Damit es zur Bildung von elektronegativen Eiweißionen in Gegenwart einer Lauge komme, muß durch die letztere die OH-Dissoziation des Eiweißes zurückgedrängt werden. Sobald die Basenstärke des Eiweißes der Stärke der zugesetzten Base gleichkommt, wird diese Ionisationshemmung nicht mehr hinreichend stattfinden, so daß eine erhebliche Bildung von negativen Eiweißionen im allgemeinen nicht mehr möglich sein wird, was sich durch das Fehlen einer Reibungsänderung ausdrückt. Danach dürfte das Eiweiß in seiner Basenstärke dem die Reibung nicht mehr ändernden Pyridin nahekommen ($x \cdot 10^{-9}$). Ähnliche Betrachtungen werden für die Beziehungen von Säuren zum Eiweiß gelten, und nach den Versuchen müßten die Säuredissoziationskonstanten von Ekgonin und Eiweiß nahe

---

[1]) Verhdl. d. Kongr. f. inn. Med., Wien 1908, 725.
[2]) Diese Zeitschr. 19, 181, 1909.
[3]) Arch. di Fisiol. 7, 612, 1909.
[4]) Journ. of Physiol. 33, 251, 1905.
[5]) Journ. of. Physical. Chem. 11, 437, 1907; ibid. 542, 1907.

übereinstimmen; da K_S von Ekgonin nicht bekannt ist, kann der K_S-Wert von Eiweiß nur mit $< 1{,}8 \cdot 10^{-5}$ (Essigsäure) begrenzt werden.

Die Tatsache, daß bei Eiweiß $K_S > K_B$ zutrifft, bringt es mit sich, daß unter sonst gleichen Umständen Eiweißverbindungen mit schwachen Basen weniger leicht hydrolytisch zerlegt werden als solche mit gleich starken Säuren. Aus demselben Grunde wird die durch Tabelle VII illustrierte Beobachtung verständlich, daß zur Herstellung der Ampholytverbindung mit Eiweiß neben kleinen Basendissoziationskonstanten der Ampholyte größere Säuredissoziationskonstanten zu einem Optimum der Reaktion erforderlich sind.

Bei den höheren Ampholytkonzentrationen scheinen neben den K_S- und K_B-Werten in einigen Fällen auch spezifische, konstitutive Einflüsse für die Neutralteilbildung hervorzutreten. Darauf weist nicht nur der eigenartige Verlauf einiger Reibungskurven hin [Thioharnstoff, Kakodylsäure (Fig. 2)], sondern auch das parallele Erscheinen von bei Verdünnung mit Wasser irreversibler Fällungen. So gibt Thioharnstoff mit unserem halbverdünnten Eiweiß von 0,5 n an mit wachsender Konzentration eine zunehmende Fällung, die bei 1 n vollständig ist, und die Kakodylsäure wirkt im Gegensatz zu anderen in bezug auf K_S nahestehenden Säuren auf den Globulinanteil des Serums in niedrigen Konzentrationen bis 0,01 n fällend. Im Überschuß des Fällungsmittels sowie auf Salz- und Laugenzusatz geht diese Fällung in Lösung und bleibt in extrem dialysierten Seren (selbst bei 4 n-Kakodylsäuregehalt) vollständig aus.

Mit Rücksicht auf die in den letzten Arbeiten festgestellten Beziehungen zwischen innerer Reibung, Hitzegerinnung und Alkoholfällbarkeit einer Eiweißlösung wurde auch das Verhalten von Ampholyteiweißmischungen gegen Hitze und Alkohol untersucht. Über ihre Veränderungen bei Temperatursteigerung unterrichten die folgenden Versuche (Tabelle VIII), die sich in bezug auf die Methodik an früher von Pauli beschriebene[1]) vollständig anlehnen. Die Temperatur t entspricht der Opazität bis zum vollständigen Verschwinden einer Druckprobe, das Zeichen — bedeutet vollständige Klarheit auch bei 80° C.

---

[1]) Vgl. Pauli, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 53, 1907.

Tabelle VIII.

RS. B halbverdünnt: t = 50° C.

Stoff	Konz.	t Grad
Coffein	0,025 n	53
Glykokoll	0,057 n	52
	0,37 n	—
Kakodylsäure	0,01 n	65
	0,05 n	—
	0,5 n	—
Harnstoff	0,5 n	54
	1,0 n	58
Thioharnstoff	0,1 n	56
	0,25 n	54
	0,5 n	53
	1,0 n	48
Pyridin	0,001 n	65
	0,005 n	—
	0,01 n	—
NaSCN	0,5 n	69
	1,0 n	72
	2,0 n	—

Nach diesen Versuchsergebnissen üben Ampholyte eine mehr oder minder weitgehende Hemmung auf die Hitzekoagulation von Eiweiß aus, die sich wohl tief unter der stark hemmenden Wirkung von Säuren und Basen unter den gleichen Verhältnissen hält, dagegen bei einzelnen Stoffen die mäßige Behinderung der Hitzeflockung durch Salze erheblich übertrifft. Dies gilt namentlich für Kakodylsäure und Glykokoll, während Coffein und Harnstoff nur eine sehr geringe Wirkung im Sinne einer Hemmung entfalten. Pyridin wirkt bereits als schwache Base. Thioharnstoff nimmt hier wie auch sonst eine Sonderstellung ein, indem er eine Begünstigung der Hitzekoagulation bewirkt, die anscheinend nur einer Beschleunigung und Steigerung der früher erwähnten spontanen Fällung von Eiweiß bei Zimmertemperatur entspricht. Die Abweichungen dieser Versuchsergebnisse von denen Spiros[1]), der zuerst systematische Versuche über den Einfluß stickstoffhaltiger Substanzen auf die Hitzegerinnung von Eiweiß angestellt hat, erklären sich ungezwungen aus der Verschiedenheit des Versuchsmaterials, da

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 182, 1900.

dieser Autor aus besonderen Gründen mit nativen, nicht dialysierten Eiweißlösungen gearbeitet hat.

Bei der Analyse der hemmenden Wirkung von Elektrolyten auf die Hitzekoagulation von Eiweiß hatten Pauli und Handovsky[1]) zeigen können, daß gewisse Salze in erster Reihe nur die Zusammenflockung, nicht die Denaturierung von Eiweiß durch die Hitze aufheben, indem nachträgliches Dialysieren einer beim Kochen klar gebliebenen Salzeiweißmischung zu einer vollständigen Ausflockung führt. Ähnliche Verhältnisse finden sich bei der Erhitzung von Ampholyt-Eiweißmischungen wieder, wie folgende Dialyseversuche ergaben:

Die Substanzen wurden in der entsprechenden Konzentration mit Eiweiß versetzt, auf 80° C erhitzt, die eine Hälfte der Probe in einer Dialysierhülse unter Toluol gegen täglich gewechseltes destilliertes Wasser dialysieren gelassen; die andere Hälfte, gleichfalls toluolisiert, diente zur Kontrolle:

Die Dialysierprobe mit 0,5 n-Glykokoll flockte nach 8 Tagen aus,
„ „ „ 0,5 n-Kakodylsäure „ „ 15 „ „
„ „ „ 2,0 n-NaSCN „ „ 4 „ „

Die Unterschiede in der Zeit der Ausfällungen dürften sich aus den verschiedenen Diffusionsgeschwindigkeiten der zugesetzten Stoffe erklären. Die Kontrollproben blieben durchwegs klar.

Wird unser halbverdünntes Serum, das bei 50° C koaguliert, durch 2 Stunden bei Temperaturen von 37 bis 40° C gehalten, so läßt sich mit Hilfe der Reibungsmessung eine eingetretene Zustandsänderung verfolgen, indem die Viscosität nunmehr tief unter dem ursprünglichen Werte liegt. Ein bei 40° gehaltenes Serum fiel sogar 2 Stunden nach seiner Wiederabkühlung auf 25° C zum Teil aus. Die so angezeigte Denaturierung[2]) wird nun, wie die Viscositätsbestimmung zeigt, sowohl durch Salze als auch durch Ampholyte verhindert. Einige Versuche dieser Art sind in der folgenden Tabelle IX wiedergegeben.

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 415, 1908.

[2]) L. Moll (Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 563, 1903) hat als erster eine Änderung des Verhältnisses von Globulin- und Albuminfraktion bei auf Temperaturen unterhalb des Koagulationspunktes erhitzten Seren beobachtet.

Tabelle IX.
RS. B: koaguliert bei 50° C ($t_{H_2O} = 598$).

	Durchströmungszeit			t der wieder auf 25° abgekühlten Lösung
	t bei 25°	t bei 37°	t bei 40°	
Halbverdünntes Serum	694	533	—	682
„ „	694	—	511	Fällung
RS. + 0,05 n NaSCN	689	—	511	689
RS. + 0,05 n Glykokoll	701	—	513	701

Während in bezug auf die Reibungserniedrigung und Hitzekoagulationshemmung von Eiweiß ein Parallelismus zwischen der Wirkung von Salzen [Pauli und Handovsky[1])] und Ampholyten nachweisbar ist, läßt sich ein solcher mit der Alkoholfällungsmethode nicht nachweisen. Die von Pauli und Brüll[2]) näher studierte Hemmung der Alkoholfällung durch Salze geht den Ampholyten ab (siehe die folgende Tabelle X).

Die untersuchten Ampholyten zeigen keinerlei Hemmungswirkung auf die Eiweißfällung durch Alkohol. Kakodylsäure bildete eine Ausnahme, indem sie von 0,01 n an die Alkoholkoagulierbarkeit unseres Serumalbumins aufhob. Möglicherweise kommt hier eine besondere Alkohollöslichkeit des mit Eiweiß gebildeten Komplexes in Frage. Von den zum Vergleiche in der Tabelle X angeführten Basen ist Nicotin in den verwendeten Konzentrationen bereits stark genug, um die Alkoholfällbarkeit von Eiweiß aufzuheben.

Versuche, die Beziehungen von Eiweiß und Ampholyten mit Hilfe der elektrischen Leitfähigkeitsmessung zu studieren, führten infolge des zu geringen Leitvermögens der in Betracht kommenden Lösungen zu keinem Ergebnisse.

Trotz einiger Ähnlichkeit in der Wechselwirkung zwischen Eiweiß und Salzen einerseits, Eiweiß und Ampholyten andererseits, die nach dem Verhalten bei der inneren Reibung anzunehmen wäre, bestehen hier doch auch Unterschiede, die sich bei der Untersuchung mittels Hitze- und Alkoholgerinnung deutlich ausprägen. In der Tat haben Pauli und Brüll mit Hilfe der Alkoholfällungsmethode das Vorhandensein verwickelter Beziehungen zwischen Eiweiß und Salzen aufdecken können, und

[1]) l. c.

[2]) Erscheint demnächst ausführlich; vgl. das Zitat bei Pauli und Handovsky, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 415, 1908.

obwohl die Bindungsorte für die Salzionen im Eiweißmolekül mit denen für den Ampholyten identisch sein dürften, muß demnach die Möglichkeit einer konstitutiven Verschiedenheit der in beiden Fällen gebildeten Komplexe in Erwägung gezogen werden.

Tabelle X.

Die Versuche sind mit RS. B gemacht. Die Mischungen bestanden aus 1 ccm RS., $2^1/_2$ ccm 95%igem Alkohol und wurden mittels der wässerigen Lösung der zu untersuchenden Stoffe auf 10 ccm ergänzt. Die Konzentration der Substanzen bezieht sich auf das Gesamtvolum. Das Serum wurde immer zum Schluß zugesetzt.

$\frac{RS.}{10}$: +++.

	c	Beobachtung nach 24 Std.
Nicotin	0,01	–
	0,03	
	0,05	
Pilocarpin	0,01	+++
	0,03	++
	0,05	+
Pyridin	0,01	+++
	0,03	+++
	0,05	++
Harnstoff	0,01	+++
	0,03	
	0,05	
Thioharnstoff	0,01	+++
	0,03	
	0,05	
Antipyrin	0,01	+++
	0,03	
	0,05	
Coffein	0,01	+++
	0,03	
	0,05	
Glykokoll	0,01	++
	0,03	+++
	0,05	+++

III.

Es erübrigt nunmehr eine Erörterung der bei der Einwirkung von Salzen verschiedener organischer Basen mit Eiweiß hervorgerufenen Zustandsänderungen. Bei der Untersuchung dieser Salze hat sich ergeben, daß ein prinzipieller Unterschied gegenüber den bei anorganischen Salzen von Pauli und Handovsky

festgestellten Eiweißwirkungen nicht vorliegt, indem die bei einigen Verbindungen beobachteten Anomalien sich ungezwungen aus einer auf verschiedenen Wegen erkennbaren Neigung zur Bildung neutraler Komplexe mit dem Eiweiß ableiten lassen. (Vgl. Tabelle XI, Fig. 3.)

Tabelle XI.

Einwirkung von Salzen schwacher Basen auf amphoteres Eiweiß.

RS. B: $\frac{t}{t_0} = 1097$.

Salz	Konzentration	A. $\frac{t}{t_0}$ des Salzes in wässeriger Lösung	$\frac{t}{t_0}$ der Salz-Rinderserummischung		D. $\frac{C-B\cdot100}{B}$ %
			B. berechnet	C. beobachtet	
Coffeinchlorid	0,01	1004*	1101	1234	+ 12,1
	0,03	1013*	1110	1289	+ 16,1
	0,05	1022	1119	1458	+ 30,3
Harnstoffnitrat . . .	0,005	1001	1098	1094	— 0,4
	0,01	1003	1100	1180	+ 7,3
	0,03	1008	1105	1213	+ 10,0
	0,05	1012	1109	1152	+ 3,3
o-Toluylendiaminchl. .	0,01	1005	1102	1113	+ 1,0
	0,03	1015	1112	1175	+ 5,7
	0,05	1025	1122	1170	+ 4,3
m-Phenylendiaminchl.	0,005	1002	1099	1084	— 1,5
	0,01	1005	1102	1098	— 0,4
	0,03	1015	1112	1161	+ 4,4
	0,05	1025	1122	1175	+ 4,8
p-Phenylendiaminchl. .	0,005	1002	1099	1084	— 1,6
	0,01	1005	1102	1115	+ 1,2
	0,03	1015	1112	1151	+ 3,6
	0,05	1025	1122	1154	+ 3,0
Nicotinchlorid	0,005	1002	1099	1083	— 1,5
	0,01	1005	1102	1094	— 0,8
	0,03	1015	1112	1126	+ 1,2
	0,05	1025	1122	1141	+ 2,6
Pyridinnitrat	0,01	1004	1101	1079	— 2,0
	0,03	1013	1110	1077	— 3,0
	0,05	1021	1118	1080	— 3,5
Piperidinchlorid . . .	0,011	1005	1102	1081	— 1,9
	0,034	1015	1112	1083	— 2,6
	0,057	1025	1122	1080	— 2,9
Anilinsulfat	0,01	1004	1101	1075	— 2,3
	0,03	1013	1110	1091	— 1,6
	0,05	1022	1119	1103	— 1,1

Tabelle XI (Fortsetzung.)

Salz	Konzentration	A. $\frac{t}{t_0}$ des Salzes in wässeriger Lösung	$\frac{t}{t_0}$ der Salz-Rinderserummischung B. berechnet	C. beobachtet	D. $\frac{C-B \cdot 100}{B}$ %
Pilocarpinchlorid . . .	0,005	1002	1099	1078	— 0,2
	0,01	1004	1101	1081	— 2,1
	0,03	1012	1109	1088	— 1,6
	0,05	1020	1117	1103	— 1,2
Äthylaminchlorid . .	0,01	1002	1099	1090	— 0,9
	0,03	1007	1104	1091	— 1,2
	0,05	1012	1109	1086	— 2,1
Diäthylaminchlorid .	0,01	1004	1101	1090	— 1,0
	0,03	1013	1110	1086	— 2,2
	0,05	1021	1118	1096	— 2,0
Ekgoninchlorid	0,005	1003	1100	1097	— 0,3
	0,01	1006	1103	1094	— 0,9
	0,03	1019	1116	Trübung	∞
	0,05	1031	1128	Fällung	∞
RS. C: $\frac{t}{t_0} = 1056$.					
Anilinnitrat	0,01	1003	1059	1051	— 0,8
	0,02	1007	1063	1056	— 0,7
	0,04	1014	1070	1059	— 1,1
	0,05	1017	1073	1062	— 1,1
Toluidinchlorid	0,01	1004	1060	1048	— 1,1
	0,03	1012	1072	1059	— 1,1
	0,05	1019	1079	1062	— 1,2
Guanidinnitrat	0,001	1000_7	1056_7	1051	— 0,5
	0,01	1001	1057	1047	— 1,0
	0,03	1004	1060	1044	— 1,5
	0,05	1007	1063	1044	— 1,8
RS. D: $\frac{t}{t_0} = 1040$.					
Anilinchlorid	0,01	1002	1042	1031	— 1,0
	0,02	1004	1044	1034	— 0,9
	0,03	1007	1047	1043	— 0,1
	0,05	1001	1051	1049	+ 0,2
RS. E: $\frac{t}{t_0} = 1045$.					
Chininchlorid	0,001	1000_6	1045_6	1044	— 0,1
	0,003	1001_8	1046_8	1039	— 0,8
	0,005	1003	1048	1034	— 1,3

Im allgemeinen zerfallen nach den zahlreichen Versuchen (vgl. oben Tab. XI, Fig. 3) die Salze organischer Basen in bezug auf ihre Wirkung auf Eiweiß in zwei Hauptgruppen,

in solche stärkerer Basen (Piperidin, Diäthyl-, Äthylamin, Pilocarpin, Guanidin, Toluidin), die gleich den anorganischen Salzen stärkerer Säuren und Basen die Eiweißreibung in Konzen-

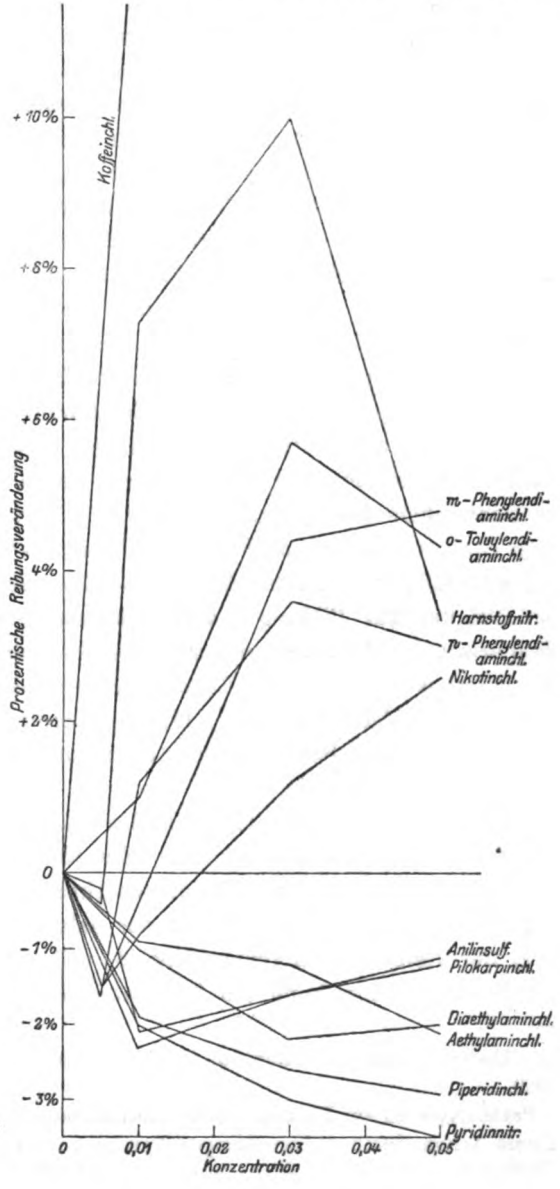


Fig. 3.

trationen bis 0,05 n erniedrigen und in Salze der schwächeren Basen (Nicotin, p- und m-Phenylendiamin, Toluylendiamin, Harnstoff, Coffein), die entsprechend ihrer starken hydrolytischen Dissoziation in Konzentrationen von 0,02 n bis 0,05 n die Eiweißreibung erhöhen und sie nur in den Anfangskonzentrationen erniedrigen. Dieses Verhalten entspricht vollständig den Beobachtungen von Pauli und Handovsky an Carbonaten und Phosphaten der Alkalimetalle und erklärt sich daraus, daß die bei geringem Salzgehalt hydrolytisch gebildete Säure die ohnedies geringe Eiweißdissoziation zurückdrängt, während in etwas höheren Konzentrationen der organischen Salze die reichlicher vorhandene Säure zur Bildung elektropositiver Eiweißionen führt. Eine besondere Stellung nehmen Harnstoffnitrat und die Salze von p-Phenylendiamin und Toluylendiamin ein, deren Reibungskurven bei 0,03 n durch ein Maximum gehen. Hier kommt es offenbar in höheren Konzentrationen des organischen Salzes zur Entstehung neutraler Komplexe mit dem Eiweiß. In ähnlicher Weise läßt sich die abnorm starke Erniedrigung der Eiweißreibung durch das Salz der relativ schwachen Base Pyridin erklären. Entsprechend dem aus den Untersuchungen von Pauli und Wagner[1]) hervorgehenden gesetzmäßigen Zusammenhang zwischen Ausfällung und starker Neigung zur Bildung neutraler Aggregate ist auch in allen oben erwähnten Fällen anomaler Viscositätsbeeinflussung ein starkes Fällungsvermögen für Eiweiß nachweisbar. Über dieses orientiert die folgende Tabelle XII, die überdies für das Pyridinnitrat einen leichten Rückgang der Ausflockung in höheren Konzentrationen anzeigt.[2])

Eine durchaus eigenartige Rolle kommt den Coffeinsalzen zu. Diese erhöhen die Eiweißreibung weit über die durch äquivalente Salzsäure bewirkte Viscositätsvermehrung. So beträgt das Maximum der Salzsäurewirkung bis ca. 18% der Reibung von reinem Eiweiß, während 0,05 n-Coffeinchlorid die Eiweißreibung um 30% steigert. Ein ähn-

[1]) Vgl. Akadem. Anzeiger, Sitzg. d. math.-naturw. Klasse vom 17. März 1910.

[2]) Als Parallelversuch zur Fällung durch Pyridinnitrat sei angeführt, daß HCl-Eiweiß schon durch geringe Mengen Pyridin gefällt wird (vgl. Tab. I im Anhang), während das reine Eiweiß selbst durch 6 n-Pyridin kaum (nach 48h spurenweise) verändert wird.

liches Verhalten zeigt sich bei Zusatz von Coffein (und Coffeinchlorid) zu HCl-Eiweiß nach dem Maximum (über 0,015 n-HCl) und zu $C_2H_4O_2$-Eiweiß, die eine weitere Steigerung ihrer Viscosität erfahren. Sämtliche übrigen Basen wirken unter den gleichen Umständen reibungserniedrigend (vgl. Tab. II im Anhang). Mit diesem spezifischen Verhalten des Coffeins dem Eiweiß gegenüber ist auch seine gleichsinnige Beeinflussung von dessen Alkoholfällbarkeit in Einklang. Versetzt man eine Eiweißlösung mit Spuren HCl, so daß dessen Alkoholfällbarkeit gerade noch erhalten bleibt, dann wird dieselbe durch Zusatz von schwachen Basen oder Salzen im allgemeinen verstärkt, hingegen durch Coffein aufgehoben. Sowohl die Reibungsversuche wie das Verhalten gegenüber der Alkoholfällung sprechen somit dafür, daß durch Coffeinzusatz die Hydratation von Säureeiweiß weiter gesteigert wird; da nun durch Untersuchungen von Schorr[1]) an unserem Institute der Übergang von Hydratation zum Eiweißabbau durch Laugen und Säuren festgestellt wurde, so verliert die merkwürdige Beobachtung von A. Pick[2]) alles Befremdliche, daß unter einer großen Reihe von Substanzen, deren Einfluß auf die Pepsinverdauung geprüft wurde, das Coffein sich durch eine eminente, die Verdauung erhöhende Wirkung heraushob. Einzelheiten über das Verhalten der anderen Stoffe gegen Säureeiweiß können der Tabelle I im Anhang entnommen werden.

Tabelle XII.

RS. B. Beobachtung nach 24 Stunden.

	c	Beobachtung		c	Beobachtung
Pyridinnitrat	0,3 n	++	Harnstoffnitrat	0,1 n	±
	0,5	++		0,2	++
	1,5	±++		0,3	±±+
	2,0	+++		0,5	+++
	3,0	+++			
	4,0	++			

Hinsichtlich der Wirkung organischer Basen und ihrer Salze hat sich herausgestellt (Tab. II im Anhange), daß die starken Basen (Piperidin, Diäthyl-, Äthylamin) die Wirkung

[1]) Diese Zeitschr. 13, 170, 1908.

[2]) A. Pick, Sitzungsber. d. Wien. Akad., math.-nat. Klasse, 112, 1, 1903.

von NaOH auf Eiweiß erhöhen, während die schwächeren Basen die Reibung von Laugeneiweiß erniedrigen. Pilocarpin und Ekgonin sind in bezug auf diese Viscosität vermindernde Wirkung allen übrigen untersuchten Stoffen weit überlegen, ein Unterschied, der auf spezifische Beziehungen zurückgeführt werden muß, da sich diese Wirkung nicht aus der Größenordnung der Dissoziationskonstanten ableiten läßt.

Die Salze sämtlicher organischer Basen wirken auf die Reibung von NaOH-Eiweiß stark erniedrigend, z. T. selbst unter die Reibung des puren Eiweißes, ein Verhalten, das im Gegensatze zu den Beobachtungen an anorganischen Salzen und dem Alkaliprotein steht und auf die Bildung größerer Komplexe mit dem Eiweiß hinweist (vgl. Tab. I und II im Anhang).

* * *

Unter den in dieser Abhandlung in ihren Wechselbeziehungen zum Eiweiß studierten organischen Basen und Salzen sind fast sämtliche Träger starker physiologischer oder toxischer Wirkungen auf den lebenden Organismus. Da nun bei der Einverleibung dieser Stoffe in den Tierkörper und ihrer Ausbreitung in demselben bis zu ihren Angriffspunkten stets Eiweißkörper zugegen sind, werden sie in einem mehr oder minder großen Anteil in einer an die Proteine gebundenen Form zur Reaktion gelangen. Bei der nicht geringen Mannigfaltigkeit in der Bildung solcher Komplexe mit dem Eiweiß werden daher auf der Verkettungsart beruhende Verschiedenheiten dieser Stoffe sowohl für ihre Fähigkeit, in die Zellen ein- und auszutreten, als auch mit den Zellbestandteilen zu reagieren, in Betracht kommen. Insbesondere wird die bei den einzelnen Substanzen konstitutiv bestimmte Neigung zur Bildung neutraler Komplexe mit dem Eiweiß der tierischen Säfte im Sinne einer Ablenkung des Giftes von der Zelle wirken können. Zur Aufstellung besonderer Gesetzmäßigkeiten in dieser Hinsicht reicht jedoch das vorliegende Material nicht aus, und es ist deshalb am Institute die Ausdehnung der Versuche auf verschiedenartige Eiweißstoffe und Zellipoide in Angriff genommen worden.

Anhang.

Tabelle I.

Wirkung organischer Basen und ihrer Salze auf HCl-Eiweiß.

a) Basen.

	Konz. der Salzsäure	Konz. der Base	$\frac{t}{t_0}$ von BS.	A. $\frac{t}{t_0}$ der HCl-Binder-S.-Mischung	$\frac{t}{t_0}$ der Basen-HCl-Binderserum-Mischung B. ber.	C. beob.	D. $\frac{100 \cdot B}{B}$ C—B / %
Coffein	0,015 n	0,018	1097	1251	1263	1269	+ 0,2
		0,054			1287	1286	0
	0,025	0,025	1060	1249	1261	1292	+ 2,4
	0,1 $C_2H_4O_2$	0,02	1097	1172	1184	1191	+ 1,0
Harnstoff	0,02	0,03	1064	1319	1321	1324	0
	0,025	0,025	1060	1249	1246	Niederschl.	
Thioharnstoff	0,025	0,025	1060	1249	1250	1257	+ 0,6
Kakodylsäure	0,025	0,025	1060	1249	1255	1239	— 1,3
Antipyrin	0,015	0,01	1097	1256	1256	1253	— 0,2
		0,04			1272	1255	— 1,3
Glykokoll	0,02	0,03	1064	1319	1329	1184	— 10,1
	0,025	0,025	1060	1249	1257	1179	— 6,2
Ekgonin	0,015	0,03	1097	1251	1265	1136	— 10,6
Piperidin	0,015	0,034	1097	1251	1273	1136	— 10,7
Diäthylamin	0,015	0,03	1097	1234	1252	1123	— 10,2
Pyridin	0,015	0,01	1097	1234	1237	1091	— 11,9
		0,03			1243	Niederschl.	
Pilocarpin	0,015	0,03	1097	1251	1269	1097	— 13,4
Nicotin	0,015	0,004	1097	1251	1254	1150	— 8,2
		0,03			1269	1100	— 13,8
p-Phenylendiamin	0,015	0,01	1097	1251	1255	1087	— 13,1
		0,03			1263	Niederschl.	
m-Phenylendiamin	0,015	0,01	1097	1251	1251	1090	— 13,0
m-Toluylendiamin	0,015	0,01	1097	1251	1256	1072	— 14,7
b) Salze.							
Coffeinchlorid	0,015	0,01	1097	1251	1255	1427	+ 13,7
		0,02			1260	1358	+ 7,8
		0,03			1264	1310	+ 3,6
m-Phenylendiaminchl.	0,015	0,03	1097	1251	1266	1206	— 4,7
o-Toluylendiaminchl.	0,015	0,03	1097	1251	1266	1188	— 6,1
Nicotinchlorid	0,015	0,01	1097	1251	1256	1201	— 4,4
		0,03			1266	1189	— 6,1
Ekgoninchlorid	0,015	0,01	1097	1251	1257	1169	— 7,0
		0,03			1270	1146	— 9,8
p-Phenylendiaminchl.	0,015	0,01	1097	1251	1256	1166	— 9,9
Pilocarpinchlorid	0,015	0,01	1097	1251	1255	1161	— 7,5
		0,03			1263	1134	— 10,3
Piperidinchlorid	0,015	0,011	1097	1251	1256	1152	— 8,3
		0,034			1266	1121	— 11,4
Harnstoffnitrat	0,02	0,01	1064	1319	1322	1218	— 7,9
		0,03			1327	1131	— 14,9
Chininchlorid	0,015	0,01	1097	1251	1257	1100	— 12,4

Tabelle II.

Wirkung organischer Basen und ihrer Salze auf NaOH-Eiweiß.

Alle Versuche wurden mit RS. A ausgeführt: RS. A: $\frac{t}{t_0} = 1097$,

0,012 n-NaOH-Serum: $\frac{t}{t_0} = 1177$.

a) Basen.

	Konz. von NaOH	Konz. des Zusatzes	$\frac{t}{t_0}$ der NaOH-RS.-Basen-mischung B. berechnet	C. beobachtet	D. $C-B\cdot\frac{B}{100}$ %
Piperidin	0,012	0,050	1202	1248	+ 3,8
		0,057	1230	1334	+ 9,6
Diäthylamin	0,012	0,01	1182	1247	+ 5,4
		0,03	1192	1298	+ 8,7
Äthylamin	0,012	0,025	1186	1217	+ 2,6
Pyridin	0,012	0,031	1185	1177	− 0,8
Antipyrin	0,012	0,01	1200	1190	− 0,8
		0,03	1210	1203	− 0,7
		0,04	1215	1215	− 0,1
m-Phenylendiamin	0,012	0,005	1195	1193	− 0,3
		0,01	1196	1190	− 0,8
		0,03	1197	1199	− 0,9
p-Phenylendiamin	0,012	0,005	1197	1188	− 0,8
		0,03	1207	1191	− 1,6
m-Toluylendiamin	0,012	0,005	1197	1187	− 0,9
		0,03	1210	1193	− 1,3
Coffein	0,012	0,009	1201	1182	− 1,3
		0,054	1231	1200	− 1,0
Nicotin	0,012	0,004	1198	1176	− 1,8
		0,02	1207	1183	− 2,0
		0,04	1219	1195	− 2,0
Glykokoll		0,01	1180	1105	− 6,4
Ekgonin	0,012	0,01	1197	1120	− 6,7
		0,03	1207	1122	− 7,2
Pilocarpin	0,012	0,01	1201	1180	− 8,5
		0,03	1213	1128	− 8,4
b) Salze.					
Harnstoffnitrat	0,012	0,03	1203	1180	− 1,7
o-Toluylendiaminchl.	0,012	0,03	1210	1128	− 6,8
Ekgoninchlorid	0,012	0,01	1201	1126	− 6,2
		0,03	1214	1124	− 7,3
p-Phenylendiaminchl.	0,012	0,03	1210	1115	− 7,8
Piperidinchlorid	0,012	0,034	1210	1097	− 9,3
Nicotinchlorid	0,012	0,03	1210	1098	− 9,3
Anilinchlorid	0,012	0,01	1197	1097	− 8,4
Pilocarpinchlorid	0,012	0,01	1199	1091	− 9,0
		0,03	1207	1091	− 9,6
m-Phenylendiaminchl.	0,012	0,03	1210	1091	− 9,9
Coffeinchlorid	0,012	0,01	1199	1079	− 10,0
		0,03	1208	1152	− 4,6

Autorenverzeichnis.

Asher, Leon und Theodor Karaúlow. Fortgesetzte Untersuchungen über die physiologische Permeabilität der Zellen. III. S. 36.

Birstein, Gustav siehe Paul, Birstein und Reuß.

Borchardt, L. und H. Lippmann. Über die Resorptionsweise des Bence-Jonesschen Eiweißkörpers. S. 6.

Browning, C. H., J. Cruickshank und I. M'Kenzie. Gewebskomponenten, die bei der Wassermannschen Reaktion beteiligt sind, insbesondere Lecithin und Cholesterin. S. 85.

Buglia, G. Einfluß der Gallensalze auf die Pankreasverdauung der Stärke. S. 239.

Burow, Robert. Über das Vorkommen eisenhaltiger Lipoide in der Milz. S. 165.

Charnass, D. Zur Methodik der Eisenbestimmung im Blute. S. 333.

Cobliner, S. Über das Antitrypsin. S. 494.

Cruickshank, J., siehe Browning, Cruickshank und M'Kenzie.

Gayda, Tullio. Calorimetrische Untersuchungen bei der Eiweißfällung durch Salze der Schwermetalle. S. 341.

Glaeßner, Karl und Alice Stauber. Beziehungen zwischen Trypsin und Erepsin. S. 204.

Golodetz siehe Unna und Golodetz.

Gudzent. Tatsächliche Berichtigungen auf die Erwiderung von Bechhold und Ziegler zu meinen „Kritischen Bemerkungen" über ihre Arbeit: Vorstudien über Gicht. Diese Zeitschr. 20, 187, 1909 und 24, 107, 1910. S. 429.

Handovsky, Hans. Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. X. S. 510.

Heimrod, Geo. W. und P. A. Levene. Über die Tryptophan-Aldehyd-Reaktion. S. 18.

Henri, Victor siehe Schnitzler und Henri.

Iwanoff, Leonid. Über die Wirkung der Phosphate auf die Ausscheidung der Kohlensäure durch Pflanzen. S. 171.

Juschtschenko, A. Über die fettspaltenden und oxydierenden Fermente der Schilddrüse und den Einfluß letzterer auf die lipolytischen und oxydierenden Prozesse im Blute. S. 49.

Karaúlow, Theodor. Beiträge zur Physiologie der Drüsen. XV. S. 305.

— — siehe Asher und Karaúlow.

Kaya, R. siehe Morgenroth und Kaya.

Levene, P. A. siehe Heimrod und Levene.

Lippmann, H. siehe Borchardt und Lippmann.

Lockemann, Georg und Johannes Thies. Über den Katalasengehalt des mütterlichen und foetalen Kaninchenblutes und über die Wirkung des foetalen Serums auf das arteigne Tier. S. 120.

Masuda, Niro. Ein Beitrag zur Analyse des Gehirns, insbesondere über den Cholesterin- und Fettsäurengehalt desselben. S. 161.

Michaelis, L. und P. Rona. Die Beeinflussung der Adsorption durch die Reaktion des Mediums. S. 359.

Michaelis, L. und B. Mostynski. Die innere Reibung von Albuminlösungen. S. 401.

M'Kenzie, J., siehe Browning, Cruickshank und M'Kenzie.

Morgenroth, J. und R. Kaya. Über Toxolecithide. II. S. 88.

Mostynski, B. siehe Michaelis und Mostynski.

Neubauer, Ernst. Über Hyperglykämie bei Hochdrucknephritis und die Beziehungen zwischen Glykämie und Glucosurie beim Diabetes mellitus. S. 284.

PERIODICAL

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE STAMPED BELOW

RENEWED BOOKS ARE SUBJECT TO IMMEDIATE RECALL

Library, University of California, Davis

Series 458A

Paul, The ... ctor
stein unc ... ltra-
trag zur Ki ... sig-
Bakterien ... 263.
dener Kon ... Be-
schiedenen ... in
Pitini, An ...
Toxine ur ... l.
Oxydation ... gen
mögen der ... ins-
Porter, A. ... lung
vierung vo ... uge
Entstehun ...
Gegenwart ... des
anderen M ... hen
Quagliarie ...
Natriumgly ... ber.
sinverdauu ... ler-
Reis, Fr. C ... die
Calciumcya ... von
daraus he ... ro-
gen. S. 46
— — Physio ... eht
Calciumcya ... ms
daraus her ... ge-
gen. S. 47 ... ti-
Reuß, Anto ...
und Reuß. ... der
Rohland, P. ... rn
tion durch ...
Rona, P. sieh ... an-
Rosenheim, ...
Tebb. Die ... ke-
sogenannter ...
hirn. S. 15 ... o-
Salkowski, ... ht.
Mitteilung ...
detz: „Über ... as
der Hornsch ... re
Sasaki, Tak ... n-
halten der F ... en
Tierkörper. ... er
Scaffidi, Vit ... es
mungsstoffw ...
fasern nach deren Resektion. S. 24.
— — Untersuchungen über den Purinstoffwechsel. II. S. 296.
— — Desgl. III. S. 411.
— — Desgl. IV. S. 415.
Wohlgemuth, J. Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Fibrinfermentes und des Fibrinogens in Körperflüssigkeiten und in Organen. S. 79.

Berichtigung zu Buglia, Einfluß der Gallensalze auf die Pankreasverdauung der Stärke. S. 239.

Fig. 4 u. 5 auf S. 252 u. 253 sind zu vertauschen. Zu den durch Fig. 5 dargestellten Versuchen ist Natriumtaurocholatlösung und nicht Natriumglykocholatlösung verwendet. Tabelle 5f u. 12 gehören auf S. 252, Tabelle 5d u. 11 auf S. 253.

61876 QP501
Biochemische zeitschrift. B54
v.25

Biochemische zeitschrift
QP501
B54
V.25

PERIODICAL

61876